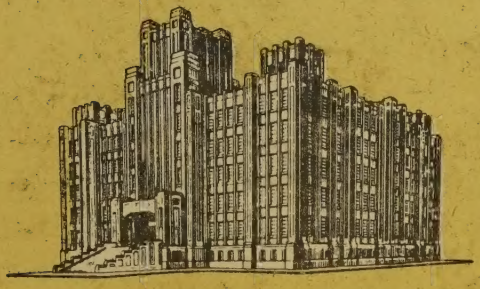
Vol. 20 1950-51

ARQUIVOS

DO

INSTITUTO BIOLOGICO

• Departamento de Defesa Sanitária da Agricultura •



SECRETARIA DA AGRICULTURA
SÃO PAULO
BRASIL

Os Arquivos do Instituto Biologico aparecem sob a forma de artigos separados publicados à medida de sua apresentação, os quais anualmente são reunidos em um volume, que pode ser adquirido por permuta ou compra pelo preço marcado na capa.

Os artigos separados, impressos em numero limitado, poderão ser adquiridos ao preço de Cr$ 2,00 no Serviço de Vendas do Instituto Biologico.

Toda a correspondencia referente aos Arquivos deve ser dirigida ao Diretor Geral do Instituto Biologico, (Departamento de Defesa Sanitária da Agricultura) Caixa postal 7119, São Paulo, Brasil.

Diretor Geral: A. A. Bitancourt

The "Arquivos do Instituto Biologico" appear in the form of separate articles published as they are presented, and are annually united in one volume, which may be acquired by exchange or purchase at the price indicated on the cover.

The separate articles may be purchased for Cr$ 2.00 from the Serviço de Vendas of the Instituto Biologico.

All correspondence referring to the "Arquivos" should be addressed to - Diretor Geral do Instituto Biologico, P. O. Box 7119, São Paulo, Brazil.

PREÇO DESTE NUMERO CR$ 50,00

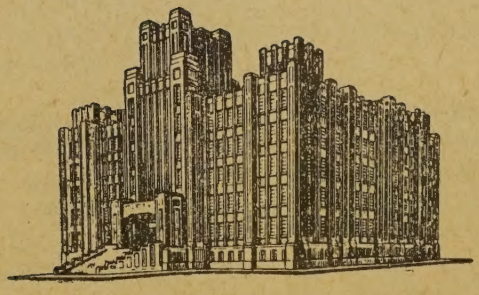
Vol. 20 1950-51

ARQUIVOS

DO

INSTITUTO BIOLOGICO

• Departamento de Defesa Sanitária da Agricultura •



SECRETARIA DA AGRICULTURA
SÃO PAULO
BRASIL

SUMÁRIO

Pags.

1. **Bitancourt, A. A.** e **Anna E. Jenkins** — ESTUDOS SÔBRE AS MIRIANGIALES — II. VINTE NOVAS ESPÉCIES DE ELSINOACEAS NEOTROPICAIS — Estampas 1-7.
Studies in the Myriangiales — II. Twenty New Neotropical Species of Elsinoaceae 1-28

2. **Bitancourt, A. A.** e **J. P. da Costa Neto** — ELSINOACEAS DO RIO GRANDE DO SUL. — Estampa 8.
Elsinoaceae from Rio Grande do Sul, Brazil 29-34

3. **Costa Lima, A. da** — AGROMIZIDEOS (DIPTERA) DO TOMATEIRO E DE ORQUÍDEAS — Estampas 9-10.
Agromyzidae (DIPTERA) of Tomato and of Orchidaceous Plants 35-38

4. **Bitancourt, A. A.** — ESTUDOS SÔBRE A "TRISTEZA" DO CITRUS — II. SUSCEPTIBILIDADE DAS DIVERSAS COMBINAÇÕES DE ENXERTIA DE LARANJEIRA DOCE E LARANJEIRA AZÊDA. — Estampas 11-17.
Studies on the "Tristeza" Disease of Citrus — II. Susceptibility of the Different Stock-Scion Combinations of Sweet Orange and sour Orange 39-52

5. **Galvão, Paulo Enéas** — PRODUÇÃO DE CALOR EM RELAÇÃO AO PESO E À SUPERFICIE CORPORAL — V. METABOLISMO BASAL DE MULHERES PUBERES E IMPUBERES DE CLIMA QUENTE, BASEADO NO PESO METABOLICAMENTE ATIVO.
Human heat production in relation to body weight and body surface — V. Basal metabolism of sexually mature and immature human females of warm climates, based on the metabolically active weight 53-66

6. **Castro, M. P. de** e **C. Pereira** — "RHINOPTES GALLINAE" N. G., N. SP. (ACARI — SARCOPTIFORMES: EPIDERMOPTIDAE), DAS FOSSAS NASAIS DA GALINHA, E CRITICA DO CONCEITO DE COHORTES NOS ACARIDIAE LATR. — Com 5 figuras no texto.
Rhinoptes Gallinae N. G., N. SP. (Acari — Sarcoptiformes: Epidermoptidae), from the Nasal Cavity of the Domestic fowl, and criticism of the Concept of cohorts in the acaridiae latr. . 67-72

(CONTINUA)

Pags.

7. **Rossetti, Victoria** e **A. A. Bitancourt** — ESTUDOS SÔBRE A "GOMOSE DE PHYTOPHTHORA" DOS CITRUS — II. INFLUENCIA DO ESTADO DE VEGETAÇÃO DO HOSPEDEIRO NAS LESÕES EXPERIMENTAIS — Com 3 figuras no texto e estampas 18-22.
Studies on Phytophthora Gummosis of Citrus — II. Influence of the State of vegetation of the Host on the Size of Experimental Lesions 73-94

8. **Andrade, Anderson Coelho de** — BASES PARA A PREVISÃO DO APARECIMENTO DE SURTOS DE "REQUEIMA" DO TOMATEIRO EM SÃO PAULO — Com 5 figuras no texto.
Basis for the Forecasting of late Blight Epiphytotics of Tomato in São Paulo 95-108

9. **Pereira Jr., J.** — POTENCIAÇÃO PÓS-TETANICA DA CONTRAÇÃO MUSCULAR NA COBAIA SOB ARSENITO DE SÓDIO — Estampas 23-24.
Posttetanic Potentiation of Muscular contraction in the Guinea Pig under sodium arsenite 109-126

10. **Andrade, Anderson C.** — O CONTRÔLE DA FERRUGEM DA GOIABEIRA POR MEIO DE PULVERIZAÇÕES — Com 3 figuras no texto.
Control of Guava Rust by Spraying 127-146

11. **Treuherz, Walter** — DA POSSIVEL EFICIÊNCIA ANTINEOPLÁSICA DE VAPOR SUPERAQUECIDO (v.s.) DE ÉTER, BALSOFORME E CHLOROFORMIO — Com 1 figura no texto 147-163

12. **Carvalho, J. C.** — NEMATOIDES DAS RAÍZES ENCONTRADOS EM SÃO PAULO — Com 1 figura no texto.
Root Nematodes Found in São Paulo 165-172

13. **Costa Lima, A. da** — UMA NOVA ESPÉCIE DE AONIDIELLA (HOMOPTERA, COCCOIDEA, DIASPIDIDAE) — Com 1 figura no texto e estampas 25-26 173-176

14. **Meyer, J. R.** — DESENVOLVIMENTO DE PRINCÍPIOS ANTINEOPLÁSICOS EM LÍQUIDOS DE CULTURA DE P. NOTATUM, SEM ENXOFRE.
Delopment of Antineoplastic activity in Culture of Penicillium Notatum Cultivated on a Nutritive Medium Deprived of Sulfur 177-181

15. **Meyer, J. R.** — ATIVIDADE ANTINEOPLÁSICA DO LÍQUIDO DE CULTURA DE UM COGUMELO DO GÊNERO PESTALOZZIA — DEMONSTRADA "IN VITRO" SÔBRE UM TUMOR TRANSPLANTAVEL DE CAMONDONGO — Estampa 27.
Antineoplastic Activity of a Fluid culture of a Fungus of the Genus "Pestalozzia" 183-192

(CONTINUA)

Pags.

16. **Meyer, J. R.** — IMPORTÂNCIA DA SACAROSE PARA O DESENVOLVIMENTO DA AÇÃO ANTINEOPLÁSICA NOS LÍQUIDOS DE CULTURA DE UM COGUMELO.
Importance of Saccharose for the Appearance of the Antineoplastic Activity of a Nutritive Solution on Which a Fungus (Pestalozzia sp) Is developed 193-197

17. **Meyer, J. R.** — SÔBRE UMA SUPOSTA RESISTÊNCIA ANTINEOPLÁSICA CONFERIDA A CAMONDONGOS PELO CONVÍVIO COM PORTADORES DO ADENOCARCINOMA TRANSPLANTADO.
On the Resistance of normal mice Living in Community With Others Bearing a Transplantable Tumor 199-203

18. **Meyer, J. R.** — EFEITO DA INALAÇÃO DE VAPORES DE ÉTER NO DESENVOLVIMENTO DO ADENOCARCINOMA TRANSPLANTAVEL DO CAMONDONGO — Estampa 28.
Effect of Inhalations of Sulfuric Ether on the Development of an Adenocarcinoma of Mice 205-207

19. **Meyer, J. R.** — TENTATIVA DE IMUNIZAÇÃO DE CAMONDONGOS CONTRA O ADENOCARCINOMA TRANSPLANTAVEL.
Immunization of Mice Against a Transplantable Adenocarcinoma 209-212

20. **Meyer, J. R.** — ENSAIOS DE TÉCNICA DE INOCULAÇÃO DE TUMOR TRANSPLANTAVEL ADEQUADA A TRATAMENTOS COM SUBSTÂNCIAS ANTINEOPLÁSICAS.
On a Simple Technique of inoculation of Transplantable Tumors Suitable to the Study of Antineoplastic Substances Used "In vivo" 213-216

21. **Silberschmidt, K.** — INFLUÊNCIA DE DOSES ELEVADAS DE B H C NO DESENVOLVIMENTO DE CAFEEIROS EM VASOS — Com 1 figura no texto e estampas 29-31.
The Influence of Heavy doses of B H C on the Development of Potted Coffee-Plants 217-248

22. **Figueiredo Jr., E. R. de** — UMA NOVA PRAGA DAS ORQUIDÁCEAS: TENTHECORIS FIGUEIREDOI CARVALHO, 1950 (HEMIPTERA, MIRIDAE, BRYOCORINAE) — Com 5 figuras no texto 249-253

—o—

Vol. 20 — Art. 1 Novembro de 1950

ESTUDOS SÔBRE AS MIRIANGIALES

II. VINTE NOVAS ESPÉCIES DE ELSINOACEAS NEOTROPICAIS

POR

A. A. Bitancourt e Anna E. Jenkins

Do Instituto Biológico de S. Paulo
e do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos

Com as estampas 1-7

No primeiro trabalho desta série descrevemos 10 novas espécies de Elsinoaceas *(Elsinoë* e *Sphaceloma)* do Brasil (BITANCOURT e JENKINS 1949).[1] O presente trabalho descreve 20 novas espécies do grupo, que, juntamente com alguns especimens de *Sphaceloma* spp. também citados, são provenientes de cinco países sul-americanos: Argentina, Brasil, Colombia, Guiana Holandesa e Venezuela, de dois países centro-americanos, Guatemala e Nicaragua, e da República Dominicana, nas Antilhas.

Entre os hospedeiros das novas espécies acham-se diversas plantas de interêsse econômico: o caquizeiro *(Diospyros kaki)*, a hovenia *(Hovenia dulcis)* e a cerejeira do Rio Grande *(Phyllocalyx laevigatus)* árvores frutíferas; a mandioca *(Manihot esculenta)*, planta alimentícia; a maniçoba *(Manihot glaziovii)*, planta industrial; as suinãs *(Erythrina reticulata* e *E. crista-galli)*, *Vallea stipularis* e *Polyscias guilfoylei*, árvores e arbustos ornamentais; o pinhão do Paraguay *(Jatropha curcas)*, planta medicinal também usada como cerca viva (CF. STANDLEY, 1949); o pau novo *(Sessea brasiliensis)*, essência florestal. O picão *(Bidens pilosa)* é uma erva daninha, comum em todo o Brasil meridional.

De diversos especimens citados no presente trabalho foram isolados os agentes causais em cultura pura, conforme está mencionado na última parte do presente trabalho.

É com prazer que consignamos aqui os nossos agradecimentos a diversos colegas, citados no texto, que contribuiram com especimens em que se baseia o presente trabalho. Aproveitamos esta oportunidade para agradecer a A. S. MULLER, atualmente na Escola Agrícola Pan Americana, Tegucigalpa, Honduras, as suas contribuições de Elsinoaceas, colhidas de tempo em tempo no Brasil, Venezuela e Guatemala. Em publicações anteriores descrevemos diversas espécies por êle colhidas e no presente trabalho descrevemos mais quatro, uma delas nomeada em sua honra.

---

(1) Esta serie de trabalhos, com seu titulo geral e os sub-titulos numerados, é uma continuação das publicações dos autores sobre este grupo de fungos.

Apreciamos as cortezias do U. S. National Herbarium, Botany Department, Smithsonian Institution, Washington, D. C. Estados Unidos, do Jardim Botânico do Rio de Janeiro e do Instituto de Botânica de São Paulo, Brasil, onde examinamos especimens dos vários hospedeiros mencionados. Pelo auxílio prestado na classificação de algumas espécies de hospedeiros somos gratos a S. F. BLAKE, C. V. MORTON, L. B. SMITH e J. F. TOLEDO e por informações sôbre os especimens do Herbario do Department of Plant Pathology, Cornell University, a C. T. ROGERSON. Devemos a W. J. ROBBINS a repicagem de uma cultura de *Sphaceloma fagarae* (Cult. 974 C) que isolamos de *Fagara coco* em 1937, e por êle mantida durante vários anos em sua coleção de culturas, juntamente com certo número de outros de nossos isolamentos de Elsinoaceas. (Cf. STEBBINS e ROBBINS 1949).

Finalmente exprimimos aqui os nossos agradecimentos a D. B. PICKEL, que verteu as diagnoses para o Latim.

1. *Sphaceloma abutilonis* sp. nov.

Estampa 1, *A - E*

Manchas das fôlhas esparsas, ou localizadas principalmente ao longo dos dois lados das nervuras, às vezes coalescentes, anfigenas, arredondadas, não raro um tanto irregulares, com orla marginal saliente nas duas faces da fôlha, de côr parda mais ou menos clara (*tawny olive* a *cinnamon buff*)[2], na face superior, mais clara na face inferior; com centro deprimido, de côr branca ou branca suja, adelgaçado, nas manchas maiores reduzido a um fino pergaminho translucido, não raro perfurado; medindo 0,1 a 0,6 mm de diametro, raramente um pouco maiores; quando numerosas, as manchas determinam pequenas rasgaduras e deformações das fôlhas. Nas nervuras, peciolos e hastes, as manchas são ovaladas ou alongadas, levemente salientes, especialmente na periferia, que é de cor parda mais escura que no centro, o qual é ligeiramente deprimido, plano e frequentemente com os tecidos superficiais mais ou menos desintegrados.

Acervulos completamente hialinos e por isso praticamente invisiveis na superficie das lesões, formando um estroma efuso na parte externa dos tecidos do hospedeiro, pulvinados, prosenquimaticos na parte profunda, com hifas pouco distintas, de paredes grossas, imiscuindo-se entre as celulas do hospedeiro, pseudoparenquimaticos na parte exterior, que tem conteudo mais denso e estrutura indistinta devido à espessura e irregularidade das paredes celulares, medindo até 50 μ de espessura na parte central, abaulada. Não foram vistas conidias.

Maculis in foliis sparsis vel secus nervos hinc inde dispositis, amphigenis, rotundatis, interdum irregularibus, margine elevato supra et infra brunneo magis vel minus claro cinctis, centro depresso, albis vel albo-sordidis, non raro laceratis, 0,1 — 0,6 mm latis; maculis in nervis, petiolis et hastibus ovatis vel elongatis necnon parum elevatis. Acervulis plane hyalinis, pulvinatis, stroma effusum in

(2) As cores são indicadas aproximadamente em português. A indicação precisa em inglês é baseada em: RIDGWAY, R. Color Standards and color nomenclature 43 pp. ilus., Washington D. C. 1912.

parte externa hospitis efformantibus, prosenchymatosum, in parte vero profunda, exterius pseudoparenchymatosum, usque 50 μ crassum parte media. Conidiis non visis.

Distribuição: Causando a doença "antracnose maculada" das fôlhas e hastes de *Abutilon striatum* DICKS., (Malvaceas) no Estado de São Paulo.

Especimen examinado:

Tremembé da Cantareira, Estado de São Paulo, Brasil, 3 de Dezembro de 1937. M. KRAMER (IB 2807, USM 90068, MSE 451 Tipo).[3]

Observações: Baseados no especimen tipo, os autores assinalaram pela primeira vez este fungo em 1938 (BITANCOURT e JENKINS 1938).

2. *Sphaceloma aegiphilae* sp. nov.

Estampa 1, *F - G*

Manchas esparsas, às vezes localizadas ao longo das nervuras, frequentemente concrescentes, anfigenas, mas principalmente visiveis na face superior da fôlha, arredondadas ou irregulares, com margem apenas saliente e bem demarcada dos tecidos sãos, de cor parda avermelhada mais ou menos escura (*mikado brown* a *vinaceous cinnamon*) e centro deprimido da mesma cor nas manchas pequenas, muito mais claro nas manchas maiores onde os tecidos são às vezes rasgados; as manchas, quando numerosas, deformam as fôlhas, dando-lhes contorno irregular; medindo 0,2 a 0,8 mm de diametro, ou maiores por coalescencia.

Acervulos ou esporodoquios esparsos irregularmente na parte central das lesões, formando pequenos pontos escuros, salientes; em secção transversal pulvinados, constituidos na parte profunda por um prosenquima hialino cujas hifas se distinguem dificilmente dos tecidos superficiais do hospedeiro, na parte externa por um pseudoparenquima escuro, de celulas arredondadas, de 3 a 6 μ de diametro, mais irregulares e escuras, na periferia onde constituem conidioforos, às vezes apiculados; medindo 50 a 150 μ de diametro e 30 a 50 μ de espessura. Não foram vistas conidias.

Maculis sparsis, saepe secus nervos dispositis, amphigenis, rotundatis vel irregularibus, margine simpliciter elevato cinctis, brunneorubris, plus minusve obscuris, centro clariore despresso, 0,2 — 0,8 mm latis. Acervulis vel sporodochiis sparsis in centro macularum sitis, pulvinatis, e prosenchymate hyalino in parte profundiore et pseudoparenchymate obscuro in parte externa compositis, cellulis rotundatis ad peripheriam in conidiophoros desinentibus, 50-150 × 30-50 μ. Conidiis non visis.

---

(3) Na citação do material examinado, os números de registro dos especimens depositados no herbario da Secção de Fitopatologia do Instituto Biológico são precedidos das iniciais 'IB". Da mesma forma os do Mycological Collections of the Bureau of Plant Industry Soils and Agricultural Engineering são precedidos das iniciais "USM", os do U.S. National Herbarium, de "USNH", os do herbario do Jardim Botanico do Rio de Janeiro, de "JBRJ", os do herbario do Instituto de Botanica do Estado de São Paulo, de "IBSP" e os do herbario do Departamento de Fitopatologia, Cornell University, de "CU". As iniciais "MSE", seguidas de um número, indicam o material distribuido na coleção "JENKINS-BITANCOURT Myriangiales selecti exsiccati" (fasciculo 10).

As culturas são citadas sob o número de registro da Secção de Fitopatologia do Instituto Biológico.

Distribuição: Causando a doença "antracnose maculada" das fôlhas de *Aegiphila sellowiana* CHAM.? (Verbenaceas) no Estado de São Paulo.

Especimen examinado:

Taubaté, Estado de São Paulo, Brasil, 19 de Fevereiro de 1938. R. DRUMMOND GONÇALVES (IB 2873, USM 90072, MSE 452, Tipo).

Observações: Baseados no especimen tipo, então classificado erradamente como *Aegiphila verticillata* VELL., os autores assinalaram pela primeira vez este fungo em 1938 (BITANCOURT e JENKINS 1938).

3. *Sphaceloma amazonensis* sp. nov.

Estampa 1, *H - J*

Manchas localizadas em certas áreas das fôlhas, numa das metades do limbo, ao longo das nervuras, das beiras ou do ápice das fôlhas, coalescentes, quando numerosas, em áreas mais ou menos extensas, anfigenas, na face superior marginadas por uma fina linha ligeiramente saliente, de côr parda avermelhada (*pecan brown* a *Rood's brown*) com 0,05 a 0,1 mm de largura; centro claro (*tilleul buff* ou mais claro) um tanto deprimido, com os tecidos frequentemente destruidos e reduzidos à epiderme inferior e às nervuras finas, sendo então translucido; na página inferior as manchas têm os mesmos caracteres mas a orla marginal é apenas pouco mais escura que o centro, que é mais fortemente deprimido; medindo 0,2 a 1 mm, raramente maiores, até 2 mm. Nas nervuras principais e nos peciolos as manchas são alongadas, coalescentes quando numerosas, levemente salientes, deprimidas na parte central.

Acervulos pouco visiveis na superfície das lesões, errumpentes, reduzidos a um pseudoparenquima feito de 2 a 3 camadas de celulas escuras, de forma irregular, as mais externas, maiores e mais escuras, constituindo uma paliçada de conidioforos mal definidos, medindo aproximadamente 60 μ de diametro e 12 μ de espessura. Não foram vistas conidias.

Maculis in foliis, ad areas quasdam restrictis, numerosis coalescentibus, amphigenis, circularibus vel rotundatis, supra linea angusta parum elevata brunneorubea cinctis, centro claro, parum depresso; in nervis primariis et petiolis maculis elongatis, numerosis coalescentibus, parum elevatis, centro depresso, 0,2-1 mm diametro. Acervulis parum visibilibus in superficie macularum, erumpentibus, ad duo vel tres strata cellularum pseudoparenchymatica redactis, cellulis obscuris, irregularibus, externis maioribus et obscurioribus, in palos conidiophororum vix definitis, 60 × 12 μ desinentibus. Conidiis non visis.

Distribuição: Causando a doença "antracnose maculada" das fôlhas de uma Bignoniacea, no Estado do Amazonas.

Especimen examinado:

Estrada do Aleixo Km 14-18, Município de Manaos, Estado do Amazonas, 11 de Agosto de 1942, A. A. BITANCOURT 950. (IB 4439, USM 90799, MSE 453, Tipo).

Observações: Em hospedeiros da família das Bignoniaceas foram descritos anteriormente *Elsinoë caroli* BITANCOURT e JENKINS (1941), *E. markhamiae* BITANCOURT e JENKINS (1941) e *E. tecomae* VIEGAS (1944). Os caracteres morfológicos desses fungos e as lesões que êles causam, assim como os gêneros de hospedeiros que êles atacam, diferem dos de *S. amazonensis*.

Quatro outros exemplares de Bignoniaceas atacadas por fungos que, pelos caracteres das lesões produzidas, parecem pertencer às Elsinoaceas, foram examinados, não revelando, porém, a presença de frutificações que permitissem identificação do agente causal. São êles:

Bignoniacea, Beira do Rio Saramacca, perto de Paramaribo, Guiana Holandesa, 19 de Julho de 1939, G. STAHEL e A. A. BITANCOURT (IB 3435, USM 90058). Lesões numerosas, epifilas, de contorno arredondado ou irregular, centro branco sujo, por esvasiamento do conteúdo das células superficiais do hospedeiro, marginadas por fina linha sinuosa, escura.

Bignoniacea, Estrada do Aleixo, Km 14, Município de Manaos, Estado do Amazonas, Brasil, 11 de Agosto de 1942, A. A. BITANCOURT 949 (IB 4438, USM 90734). Lesões epifilas, redondas ou irregulares por coalescencia, com centro branco por esvasiamento do conteúdo celular, e fina linha marginal escura, algumas vezes associadas a *Cephaleuros virescens* KUNTZ.

Bignonia alliacea LAMB., Belem, Estado do Pará, Brasil, 20 de Outubro de 1942, W. ANDREW ARCHER (IB 5016, USM 90202). Lesões grandes, verrugosas, de estrutura corticosa, com margem saliente e centro muito deprimido, crateriforme. Estas lesões apresentam alguma analogia com as que são produzidas por *E. caroli*, mas são maiores e mais salientes.

Bignoniacea (silvestre). Chacara Santa Branca, Jacareí, Estado de São Paulo, Brasil, 9 de Abril de 1943, A. A. BITANCOURT 964 (IB 4599, USM 90722).

Lesões muito numerosas, pequeninas, côr de ferrugem.

4. *Sphaceloma bidentis* sp. nov.

Estampa 2, *A - C*

Manchas das fôlhas esparsas, principalmente hipofilas e visiveis na face superior como uma simples depressão de côr escura; na face inferior de forma irregular, às vezes alongadas, acompanhando as nervuras secundárias, salientes, de aspecto corticoso, de cor parda muito clara (*tilleul buff*) medindo 0,5-2 mm de diametro; às vezes epifilas e com os caracteres da face superior iguais aos das manchas hipofilas na face inferior. Nas hastes as manchas são numerosas, coalescentes em áreas extensas, arredondadas ou irregulares, apenas ligeiramente salien-

tes, com margem de 0,2 a 0,6 mm de largura, de côr parda avermelhada (*russet vinaceous* a *sorghum brown*) e centro pardo acinzentado (*vinaceous buff* a *avellaneous*), às vezes escurecido pelo fungo causal, finamente enrugado; medindo 2-5 mm de diametro. As lesões, quando abundantes, causam deformações das hastes, em forma de "S".

Acervulos visiveis na superficie das lesões como um revestimento continuo, de côr escura ou então, individualmente, como pequenos pontos escuros, ligeiramente salientes, de contorno e de distribuição irregulares; em secção transversal constituidos por uma a duas camadas de celulas escuras, de forma irregular e dimensões muito variaveis, agrupadas em pequenos maciços ligeiramente salientes, às vezes com disposição mais ou menos convergente para a parte mais saliente do acervulo; medindo 15-50 μ de diametro, 10-15 μ de espessura, ou coalescendo em uma camada continua; assentados sôbre um prosenquima hialino cujas hifas se imiscuem entre as celulas do hospedeiro, repletas de goma parda de ferida. Não foram vistas conidias.

Maculis in foliis sparsis, praesertim hypophyllis, irregularibus, saepe elongatis, secus nervos secundarios sitis, elevatis, corticem imitantibus, brunneo-claris, 0,5-2 mm latis; in hastibus maculis numerosis, rotundatis vel irregularibus, vix elevatis, margine 0,2-0,6 mm latis, brunneo-rubeo cinctis, centro brunneo-cinereo, 2-5 mm latis. Acervulis ad unum vel duo strata cellularum redactis, cellulis irregularibus, magnitudine variabili, in massulas parum elatas, 15-50 × 10-15 μ magnas aggregatis, vel coalescentibus in stratum continuum, e prosenchymate hyalino natis. Conidiis non visis.

Distribuição: Causando a doença "antracnose maculada do picão" nas hastes e fôlhas de *Bidens pilosa* L. (Compostas) nos Estados do Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e São Paulo.

Especimens examinados:

Estrada de Ferro de Maricá, Estado do Rio de Janeiro, Brasil, 16 de Outubro de 1938, A. A. BITANCOURT 700 (IB 3027, USM 90040); Chacara Petrópolis, Montenegro, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, 9 de Abril de 1937, H. S. FAWCETT e A. A. BITANCOURT (IB 2566, USM 90042); Chacara Leopoldo Gemmer, Montenegro, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, 9 de Abril de 1937, H. S. FAWCETT e A. A. BITANCOURT (IB 2567, USM 72766); Bom Jesus, São Lourenço, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, 6 e 7 de Dezembro de 1948, J. A. DESLANDES (IB 5440, USM 90733); Limeira, Estado de São Paulo, Brasil, 21 de Janeiro de 1937, H. S. FAWCETT (IB 2384, USM 90041); Fazenda Guth, Indaiatuba, Estado de São Paulo, Brasil, 9 de Maio de 1938, A. A. BITANCOURT 668 (IB 2915 USM 90043, MSE 456, Tipo).

Observações: Baseados no especimen de Limeira (IB 2384) os autores assinalaram pela primeira vez este fungo em 1937 (JENKINS e BITANCOURT 1936 (1937)) [4] dando o hospedeiro como *Bidens tridentatus* L. Esta classificação foi mais tarde retificada para *B. pilosa* L.

(4) A publicação é datada de 1936 mas a nota 2, em que está assinalado este fungo assim como outros citados no presente trabalho, foi acrescentada em curso de impressão, em 1937.

5. *Elsinoë diospyri* sp. nov.

Estampa 2, *D - F*

Manchas das fôlhas esparsas ou localizadas em certas áreas como o ápice e as beiras, frequentemente coalescentes e cobrindo uma fração consideravel da superficie foliar, epifilas, redondas ou um tanto irregulares, de côr uniformemente marron escuro ou preta (*fuscous black*) quando pequenas, de margem da mesma cor com largura de 0,1-0,5 mm e centro branco sujo acinzentado por esvaziamento das celulas superficiais, quando maiores; medindo 0,5-2,5 mm de diametro.

Ascomas visiveis no centro das lesões como pontos pardos escuros, ligeiramente salientes, de forma irregular; em secção transversal pulvinados, assentados diretamente sôbre o parenquima em paliçada do hospedeiro cujas celulas tem a parede periclina externa fortemente espessada e contêm goma de ferida parda; constituidos por um pseudoparenquima pardo claro, coberto de um epitecio bem diferenciado, cujas celulas, em duas ou três camadas, são achatadas e escuras; às vezes separados dos tecidos do hospedeiro por um prosenquima hialino, frouxo e cheio de lacunas; medindo 80-200 μ de diametro e 60 μ de espessura, repletos de ascos globosos, aproximadamente de 28 μ de diametro, que contêm até 8 ascosporos hialinos, munidos de um a dois septos transversais, provavelmente de 3 quando maduros, medindo 8-10 × 4-5 μ.

Esporodoquios da forma imperfeita constituindo um pseudoparenquima escuro feito de celulas irregulares, as mais externas alongadas no sentido perpendicular à superficie da fôlha, formando uma paliçada de conidioforos intimamente coalescentes; medindo 50-100 μ de diametro por 25-35 μ de espessura, assentados num prosenquima frouxo, hialino, que os separa do parenquima em paliçada do hospedeiro. Não foram vistas conidias.

Maculis in follis sparsis vel ad apicem et oras sitis, epiphyllis, circularibus vel parum irregularibus, margine castaneo-obscuro vel nigro cinctis, centro albo cinereo, 0,5 — 2,5 mm latis. Ascomatibus pulvinatis e pseudoparenchymate brunneo-claro compositis et epithecio bene definito tectis, 80-200 × 40-60 μ, ascis globosis refertis, circiter 28 μ latis, usque 8 sporis; hyalinis, 1-2 transversaliter septatis et probabiliter in maturitate 3 septatis, 8-10 × 4-5 μ.

Sporodochiis formae imperfectae e pseudoparenchymate obscuro compositis, cum cellulis irregularibus, exterius palos conidiophororum intime coalescentium, 50-100 × 25-35 μ efformantibus, ex prosenchymate laxo, hyalino natis. Conidiis non visis.

Distribuição: Causando a doença "antracnose maculada do caquizeiro" nas fôlhas de *Diospyros kaki* L., (Ebenaceas) no Estado de São Paulo.

Especimens examinados:

Suzano, Estado de São Paulo, Brasil, 29 de Abril de 1943 (IB 4612, USM 90712, Tipo) e 28 de Abril de 1944 (IB 4802, USM 90723, Topotipo), M. T. Piza; Araraquara, Estado de São Paulo, Brasil, 11 de Maio de 1943, M. T. Piza (IB 4613, USM 90724); São João da Boa Vista, Estado de São Paulo, Brasil, Maio de 1948, S. Silva Mello (IB 5409, USM 90725).

Observações: O primeiro autor, baseado no especimen tipo (IB 4612), assinalou pela primeira vez este fungo em 1943 (BITANCOURT 1943). E' o primeiro representante das Elsinoaceas a ser descrito sôbre uma espécie de Ebenacea.

6. *Sphaceloma ditremexae* sp. nov.

Estampa 2, *G - I*

Lesões das vagens esparsas, frequentemente coalescentes, arredondadas ou irregulares, bem delimitadas, salientes, com superficie irregular, às vezes com desintegração dos tecidos superficiais, de côr parda clara (*vinaceous buff*) irregularmente tinta por um pigmento aroseado e então puxando para o pardo claro rosado (*light grayish vinaceous*), escurecida em certos lugares pelas frutificações do agente causal; medindo 0,5-2 mm de diametro, ou maiores por coalescencia.

Frutificações formando um revestimento continuo, escuro, na superficie das lesões, constituidas, na parte externa, por um pseudoparenquima hialino escuro na região superficial onde os elementos celulares são alongados no sentido perpendicular à superficie da fôlha e formam uma paliçada de comidioforos intimamente coalescentes; na parte profunda, por um prosenquima hialino; medindo aproximadamente 40 μ de espessura; conidias continuas, hialinas, globosas ou um tanto alongadas, medindo 2 a 5 μ de diametro.

Maculis in leguminibus sparsis, vulgo coalescentibus, rotundatis vel irregularibus, bene definitis, elevatis, cum superficie irregulari, brunneo-claris, certis in locis obscuratis propter praesentiam frutificationum ibi nascentium, 0,5-2 mm latis vel maioribus per coalescentiam. Fructificationibus operimentum continuum obscurum efformantibus e pseudoparenchymate hyalino compositis, exterius obscuro, cum cellulis elongatis, perpendicularibus (relatione superficiei folii), palos conidiophororum intime coalescentium efformantibus; in parte profundiore e prosenchymate hyalino compositis, circa 40 μ crassis. Conidiis continuis, hyalinis, globoss vel parum elongatis, 2-5 μ longis.

Distribuição: Causando a doença "verrugose" das vagens de *Ditremexa hirsuta* (L.) B. & R. (*Cassia hirsuta* L., Leguminosas) na Venezuela.

Especimen examinado:

La Mesa, Estado Trujillo, Venezuela, 27 de Agosto de 1932. C. E. CHARDON, Cornell Univ. Herb. Mycol. Expl. of Venezuela 938 (IB 4675, USM 69313, CU, MSE 463, Tipo).

Este especimen nos foi gentilmente cedido por H. H. WHETZEL.

Observações: *Sphaceloma ditremexae* acha-se incluido em "Mycological Explorations in Venezuela", de CHARDON e TORO (1934). Nesse trabalho foram descritas 92 novas espécies (*loc. cit.* p. 333-335); a elas acrescentamos agora *S. ditremexae*, como unica Elsinoacea da coleção.

7. *Sphaceloma erythrinae* sp. nov.

Estampa 2, *J - M*

Lesões das fôlhas, esparsas, às vezes localizadas ao longo das nervuras, anfígenas, as menores arrendondadas, salientes na face superior, de superficie plana e aspecto lusidio, de côr parda escura, geralmente mais escura na periferia (*benzo brown, fuscous* ou *dusky drab*), na face inferior apenas salientes, de contorno um tanto angular, bem delimitadas, de côr parda escura (*deep brownish drab*) na periferia, ligeiramente mais claras no centro; as manchas maiores irregulares, com margem saliente, bem delimitadas, de côr parda escura (*fuscous*) com 0,2-0,5 mm de largura, e centro branco sujo por completo esvaziamento das celulas do tecido foliar que forma uma pelicula mais ou menos desintegrada e frequentemente perfurada. As manchas são envolvidas por um halo translucente, à semelhança das manchas das fôlhas de origem bacteriana, halo êsse que coalesce com o das manchas visinhas quando elas são numerosas, formando uma extensa área clorotica; medindo 0,5-4 mm de diametro. Nos caules e peciolos, as lesões são grandes, alongadas, salientes na periferia, que é de côr escura, planas na parte central clara; medindo 3-10 × 2-5 mm.

Esporodoquios formando pequenos maciços muito salientes, de côr branca a parda escura, espalhados na superficie das lesões, a maioria epifila, em secção transversal errumpentes, abaulados, quase hemisfericos, compostos de um pseudoparenquima pardo mais ou menos escuro, com elementos celulares arredondados, os maiores alcançando 6 μ de diametro; na parte interna com estrutura prosenquimatica, hialina, ou de coloração mais clara, medindo 60-120 × 40 μ. Não foram vistas conidias.

Maculis in foliis sparsis, saepe secus nervos locatis, amphigenis, circularibus vel irregularibus, margine elevato cinctis, bene definitis, brunneo-obscuris, centro albo-sordido, frequenter perforato, 0,5-4 mm latis, Maculis in caulibus et petiolis magnis, elongatis, margine elevato obscuro cinctis, centro plano, claro, 3-10 × 2-5 mm. Sporodochiis ad massulas elevatas, albas et brunneo-obscuras redactis, sparsis in superficie macularum, maxima parte epiphyllis, erumpentibus (in sectione transversali), convexis, paene hemisphaericis, e pseudoparenchymate brunneo plusve minusve obscuro compositis, intus vero e prosenchymate clariore confectis, 60-120 × 40 μ. Conidiis non visis.

Distribuição: Causando a doença "antracnose maculada das suinãs" nas fôlhas e hastes de *Erythrina reticulata* PRESL e *Erythrina crista-galli* L. (Leguminosas) nos Estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Rio Grande do Sul.

Especimens examinados:

Sôbre *Erythrina reticulata* PRESL.

Horto Florestal, Cantareira, Estado de São Paulo, Brasil, 31 de Janeiro de 1938, E. RACT. (IB 2859, USM 90037, MSE 464, Tipo). São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil, 27 de Janeiro de 1944, A. A. BITANCOURT 977 (IB 4741, USM 90726); Jardim Botânico, São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil, 2 de Maio de 1946, A. A. BITANCOURT

1001 (IB 5018, USM 90714, MSE 465); Petrópolis, Estado do Rio de Janeiro, Brasil, 1 de Julho de 1943, D. G. GÓES e D. CONSTANTINO 249 (IB 5478, USM 90727, JBRJ 50471).

Sôbre *Erythrina crista-galli* L.

Taquari, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, Outubro de 1941, J. P. COSTA NETO (IB 4559, USM 90715).

Observações: No especimen IB 4741 as lesões são ùnicamente localizadas sôbre a face inferior das nervuras. No especimen de *E. crista-galli* (IB 4559) que nos foi enviado por J. P. DA COSTA NETO, as manchas das fôlhas são esparsas, às vezes localizadas no ápice da fôlha, epifilas ou hipofilas e pouco visíveis na face oposta, redondas, de côr branca suja, com fina linha marginal escura, saliente; medindo 0,5 - 1 mm de diâmetro. Nos caules as manchas são maiores e mais alongadas. Apesar de diferenças, a nosso ver pouco importantes, no tipo das lesões e na morfologia do fungo causal, julgamos dever incluir este especimen na espécie *S. erythrinae.*

Baseados no especimen tipo (IB 2859), os autores assinalaram pela primeira vez este fungo em 1938 (BITANCOURT e JENKINS 1938).

8. *Sphaceloma fagarae* sp. nov.

Estampa 3, *A* - *K*

Manchas das fôlhas esparsas, epifilas ou hipofilas, redondas ou ligeiramente irregulares, as manchas epifilas com margem bem delimitada e saliente, formando uma fina linha escura (*benzo browm* ou *fuscous*) de 0,1 mm de largura, e centro fortemente deprimido, de côr branca suja, por esvaziamento das celulas superficiais que são, às vezes, dilaceradas, deixando ver os tecidos subjacentes; na face inferior pouco visiveis ou formando uma área escura, mal delimitada, irregularmente abaulada; as manchas hipofilas apresentam na face inferior o aspecto das manchas epifilas na face superior porém com linha marginal mais clara; medindo 0,3-0,8 mm de diametro. Na face inferior das nervuras, nos peciolos e nas hastes, as lesões são bem delimitadas, salientes, abauladas, de superficie lisa, com periferia clara (*vinaceous buff*) e centro mais escuro (*wood brown*); medindo 0,2-1,5 × 0,5-2 mm.

Frutificações constituidas por fasciculos de conidioforos pardos, erectos, cilindricos, ligeiramente flexuosos, continuos ou munidos de um septo, com ápice atenuado, formando às vezes uma ampola piriforme, medindo 20-50 μ de comprimento por 2-4 μ de diametro; conidias continuas, amarelas, de paredes finas, oblongas ou fusiformes, 8-15 × 3 μ. Os conidioforos originam-se de um estroma pouco desenvolvido nas frutificações novas, mas que se torna volumoso e errumpente mais tarde, formando verdadeiros esporodoquios pulvinados feitos de um pseudoparenquima escuro na periferia, claro, até hialino, na parte interna, e que suporta as bases dos conidioforos, então desintegrados e quase completamente desaparecidos nas frutificações velhas; o estroma basal mede 100-180 μ de diametro e 50 μ de espessura.

Maculis in foliis sparsis, epiphyllis vel hypophyllis, circularibus vel parum irregularibus, margine bene definito elevato, cum linea angusta obscura 0,1 mm lata cinctis, centro valde depresso, albo-sordido, 0,3-0,8 mm latis. Maculis subtus nervos, in petiolis et hastibus bene definitis, elevatis, convexis, in superficie laevibus, margine claro cinctis, centro obscuriore, 0,2-1,5 × 0,5-2 mm. Fructificationibus ex conidiophoris fasciculatis, brunneis, erectis, cylindricis, parum flexuosis, continuis vel 1-septatis, apice attenuatis, 20-50 × 4 μ compositis. Conidiis flavis, oblongis vel fusiformibus, tenui-tunicatis, 8-15 × 3 μ.

Distribuição: Causando a doença "antracnose maculada" das fôlhas e hastes de *Fagara coco* (Gill.) Engl., *F. hiemalis* (St. Hil.) Engl. e *F. riedeliana* (Engl.) Engl. (Rutaceas) na República Argentina e no Estado de São Paulo.

Especimens examinados:

Sôbre *Fagara coco* (Gill.) Engl.

Dept. Tifli, Província de Tucuman, Argentina, Fevereiro de 1919, S. Venturi (IB 5613, USM 90857, USNH 1549829); Rio Salé, Província de Tucuman, Argentina, 29 de Março de 1919, S. Venturi (IB 2676, Herbario da Estação Experimental Agrícola de Tucuman n.º 231a); Villa Nougues, Província de Tucuman, Argentina, 4 de Maio de 1937, H. S. Fawcett e A. A. Bitancourt (IB 2562, USM 72799).

Sôbre *Fagara hiemalis* (St. Hil.) Engl.

São Roque, Estado de São Paulo, Brasil, 22 de Setembro de 1917, Arruda (IB 2483, USM 90075); Tembetary, Estado de São Paulo, Brasil, sem data, E. Amaral (IB 4982, USM 90729, IBSP 31832).

Sôbre *Fagara riedelianum* (Engl.) Engl.

Piracicaba, Estado de São Paulo, Brasil, 28 de Fevereiro de 1938, S. C. Arruda (IB 2895, USM 90076, MSE 466, Tipo).

Observações: As pequenas lesões dos especimens sôbre *F. hiemalis* e *F. coco* são parecidas com as do especimen tipo. A lesão maior representada na Est. 3, fig. *H*, que é do especimen IB 2483, mostra-se completamente coberta de acervulos do fungo causal, mas é bem maior que as lesões usuais. O fungo parasita dessas duas espécies não tem os conidioforos flexuosos do tipo *Cladosporium* do especimen tipo. Seus esporodoquios são do tipo *Melanobasidium*, o que o afastaria da espécie *S. fagarae*. Como, entretanto, as frutificações velhas desta última perdem seus conidioforos e apresentam uma base pseudoparenquimatica muito semelhante a esporodoquios, preferimos por enquanto incluí-lo em *S. fagarae*, até que o encontro de material novo permita decidir si êle de fato constitue uma espécie distinta.

Baseados nos especimens de Tucuman (IB 2676 e 2562), São Roque (IB 2483) e Tembetary (IB 4982), os autores assinalaram pela primeira vez este fungo em 1938 (BITANCOURT e JENKINS 1938).

Num exemplar de uma outra Rutacea: *Esenbeckia febrifuga* ADR. JUSS., Piracicaba, Estado de São Paulo, Brasil, 1 de Novembro de 1938, S. C. ARRUDA (IB 3045, USM 90077), os autores constataram uma antracnose maculada com lesões semelhantes às de *Fagara*; spp.. A ausência de frutificações do fungo causal impede, entretanto, uma comparação mais detalhada com *Sphaceloma fagarae*.

9. *Sphaceloma guatemalensis* sp. nov.

Estampa 3, *L - N*

Lesões das fôlhas frequentemente localizadas ao longo e por cima das nervuras, epifilas e hipofilas, pouco visiveis na face oposta da fôlha onde constituem uma depressão, às vezes de cor escura; de contorno bem delimitado e periferia de côr escura, com pigmento avermelhado (mais escuro que *taupe brown*), geralmente escondida pela forte saliencia do centro da lesão que tem superficie irregular, verrugosa, de aspecto corticoso, de cor parda clara (*pinkish buff*); medindo 0,5-1 × 0,5-3 mm. As lesões dos peciolos têm os mesmos caracteres mas são mais alongadas.

Frutificações formando um revestimento continuo na superficie das lesões, pouco visiveis, constituidas por um pseudoparenquima hialino de 15 a 20 μ de espessura; conidias redondas ou ovaladas, continuas, hialinas, com 3-5 μ de diametro.

Maculis in foliis frequenter secus et super nervos, epiphyllis et hypophyllis, margine optime definito obscuro cinctis, centro cum superficie irregulari, verrucosa, aspectu corticoso, brunneo-claro, 0,5-1 × 0,5-3 mm. Maculis in petiolis magis elongatis. Fructificationibus stratum continuum in superficie macularum efformantibus parum visibilibus, e pseudoparenchymate hyalino, 15-20 μ crasso compositis. Conidiis globosis vel ovatis, continuis, hyalinis, 3-5 μ latis.

Distribuição: Causando a doença "verrugose" das fôlhas de *Centropogon cordifolius* BENTH. (Campanulaceas) na Guatemala.

Especimen examinado:

Chicacas, Suchitipequez, Guatemala, 29 de Dezembro de 1941, A. S. MULLER, Esc. Nac. de Agric. de Guatemala, Herbario Micologico n.º 100 (IB 4550, USM 74431, Tipo).

Observações: É este o primeiro representante das Elsinoaceas a ser descrito sôbre uma espécie de Campanulacea.

10. *Sphaceloma hoveniae* sp. nov.

Estampa 3, *O - Q*

Lesões das fôlhas esparsas ou localizadas ao longo das nervuras, ou ainda concentradas nas regiões internervais, frequentemente coalescentes, anfigenas, as menores arredondadas, as maiores irregulares; na face superior levemente salientes

na periferia, que forma uma linha sinuosa, lusidia, de côr parda avermelhada (*pecan brown* a *Rood's brown*), deprimidas no centro que é mais escuro (*Van Dyke brown* ou mais escuro) e, nas manchas grandes, mais claro por adelgaçamento, translucido e às vezes perfurado; na face inferior as manchas têm os mesmos caracteres, mas usualmente sòmente as maiores são bem visiveis e são impregnadas de um pigmento avermelhado que se estende aos tecidos sãos em torno das manchas, ao redor das quais há um halo translucido; medindo 0,2-1,5 mm de diametro.

Esporodoquios a principio intraepidermicos, posteriormente errumpentes, formados por um pseudoparenquima feito de celulas isodiametricas com cerca de 4 μ de diametro, tornando-se apenas um pouco mais alongadas até 8 μ de comprimento, na parte externa, onde constituem uma paliçada de conidioforos coalescentes, mal diferenciados; de paredes escuras na parte externa, tornando-se mais claras na região interna onde o pseudoparenquima se transforma paulatinamente em prosenquima hialino, o qual se imiscue entre as celulas superficiais, desorganizadas, do parenquima foliar do hospedeiro; medindo 40-100 × 30-50 μ. Não foram vistas conidias.

Maculis in foliis sparsis vel secus nervos locatis, saepe coalescentibus, amphigenis, rotundatis vel valde irregularibus, supra margine parum elevato in forma lineae sinuosae lucentis, brunneo-rubicundulae cinctis, centro depresso, 0,2-1,5 mm latis. Sporodochiis primo intraepidermicalibus, postea erumpentibus, e pseudoparenchymate exterius palos conidophororum coalescentium vix definitorum gerente compositis, cellulis obscure-tunicatis parte externa et clarioribus parte interna, 40-100 × 30-50 μ. Conidiis non visis.

Distribuição: Causando a doença "antracnose maculada" das fôlhas de *Hovenia dulcis* THUNB. (Ramnaceas), na República Argentina e no Brasil.

Especimen examinado:

Colonia Liebig, San Carlos, Provincia de Corrientes, Argentina, 28 de Dezembro de 1039, A. A. BITANCOURT 852. (IB 3489, USM 90065, MSE 470 Tipo); Vargem Alegre, Estado do Rio de Janeiro, Brasil, 18 de Abril de 1918, H. DELFINGE (IB 5480, JBRJ 15205).

11. *Elsinoë jatrophae* sp. nov.

Estampa 4, *A - C*

Manchas das fôlhas esparsas ou reunidas ao longo das nervuras, a maioria epifila, algumas hipofilas ou anfigenas, de forma irregular, na face superior salientes na periferia; abauladas quando pequenas e deprimidas quando maiores, no centro, que é de côr branca por esvaziamento das celulas superficiais e percorrido por finas linhas, aproximadamente de 15 μ de largura, paralelas ou acompanhando as nervuras, de côr marron escura. Às vezes o centro é adelgaçado e translucido, ou então rasgado. Nas manchas epifilas a face inferior constitue uma simples depressão escura, nas manchas hipofilas e anfigenas, elas têm os caracteres das manchas epifilas na face superior; medindo 0,5-2 mm.

Ascomas formando pequenos pontos escuros, redondos ou ligeiramente irregulares, apenas salientes, às vezes um tanto lusidios, na superficie branca das

lesões; em cortes transversais formados de um pseudoparenquima bem delimitado dos tecidos do hospedeiro, escuro, principalmente na região externa que constitue um epitecio mais ou menos bem caracterisado; medindo 40-80 × 15-20 μ; repletos de ascos globosos medindo aproximadamente 20 μ de diametro, e contendo até 8 ascoporos hialinos, munidos de 3 septos, medindo 12-15 × 4-6 μ.

Maculis in foliis sparsis vel secus nervos aggregatis, maxima parte epiphyllis, minussaepe hypophyllis vel amphigenis, irregularibus, supra margine elevato cinctis, centro convexo vel depresso, albo, saepe delicato et translucido vel lacerato, 0,5-2 mm latis. Ascomatibus e pseudoparenchymate bene distincto a parenchymate hospitis, obscuris, imprimis in regione externa epithecium plus minusve caracteristicum efformante, 40-80 × 15-20 μ compositis, ascis globosis refertis, circa 20 μ latis, ascosporis (usque 8) hyalinis, 3 - septatis, 12-15 × 4-6 μ.

Distribuição: Causando a doença "antracnose maculada do pinhão do Paraguay" das fôlhas de *Jatropha curcas L.* (Euforbiaceas) na Guatemala e Honduras.

Especimen examinado:

Barcena, Guatemala, 18 de Setembro de 1943, A. S. MULLER Esc. Nac. de Agric. de Guatemala Herb. micol. 493. (IB 4951, USM 90158, MSE 473, Tipo), Tegucigalpa, Honduras, 28 de Maio de 1950, A. S. MULLER (IB 5634, USM 90945).

12. *Sphaceloma lobeliae* sp. nov.

Estampa 4, *D - F*

*Maculis in foliis sparsis vel secus nervos aggregatis, maxima parte epiphyl-*das nervuras onde elas coalescem e que cobrem completamente quando numerosas, a maioria hipofilas, arredondadas ou irregulares, na face inferior salientes com centro plano, de côr amarela (*vinaceous buff*) em alguns casos levemente tinta por um pigmento avermelhado, na face superior às vezes apenas visiveis como leve depressão ou irregularidade da fôlha, de côr marron avermelhado escuro (*seal brown*), outras vezes com o mesmo aspecto da face inferior, porém com margem avermelhada, ocasionalmente completamente pretas no centro devido às frutificações do fungo causal; medindo 0,2-0,8 mm. Na face inferior das nervuras as manchas são alongadas, numerosas e coalescentes, causando um espessamento do orgão. Nas hastes as manchas são alongadas, fortemente salientes na periferia, que é clara, deprimidas e enrugadas longitudinalmente no centro, uniformemente escurecido pelas frutificações do agente causal, medindo 2-5 × 0,6-1,5 mm.

Acervulos alongados, dispostos radialmente ou então completamente coalescentes, de modo a formar um revestimento continuo, pardo escuro, na superficie das lesões; na parte externa constituidos por uma ou duas camadas de celulas de paredes escuras, as mais externas um tanto alongadas e constituindo, por coalescência, uma paliçada de conidioforos, às vezes dispostas em pequenos tufos ou massas, com ápice convergindo para o centro do acervulo, frequentemente piriformes, com base dilatada, 6 μ de diametro e ápice atenuado; medindo 6-8 × 3 μ. Este tecido externo de uma a duas camadas está diretamente assentado num pseudoparenquima hialino, de paredes tão espessas que impedem que se distinguam os elementos celulares, os quais sòmente se identificam pelo contorno de sua cavidade central. O

conjunto de conidioforos e pseudoparenquima basal mede de 25 a 50 μ de espessura. Não foram vistas conidias.

Maculis in foliis sparsis vel secus nervos subtus congregatis, maxima parte hypophyllis, rotundatis vel irregularibus, subtus elevatis, centro plano, flavo, occasione oblata nigris propter praesentiam fructificationum, 0,2-0,8 mm latis. Maculis in hastibus elongatis margine valde elevato, claro cinctis, centro depresso, uniformiter obscuro acervulorum causa, 2-5 × 0,6-1,5 mm. Acervulis ab uno vel duobus stratibus cellularum obscurarum compositis, exterius e cellulis elongatis coalescentibus palos conidophororum efformantes constitutis e pseudoparenchymate hyalino, 25-50 μ crasso enatis. Conidiis non visis.

Distribuição: Causando a doença "verrugose" das fôlhas, hastes e inflorescências de *Lobelia hassleri* A. Zahlbr. (Lobeliaceas), no Estado do Paraná.

Especimen examinado:

Governador Ribas, Estado do Paraná, Brasil, 20 de Dezembro de 1945. M. Kramer (IB 4986, USM 90716, MSE 475, Tipo).

Observações: É este o primeiro representante das Elsinoaceas a ser descrito sôbre uma espécie de Lobeliacea.

13. *Sphaceloma manihoticola* sp. nov.

Estampa 4, *G - N*

Manchas das fôlhas geralmente agrupadas em certas áreas, em regra perto do ápice, e mais ou menos coalescentes, anfigenas, arredondadas ou irregulares, na face superior com margem formando uma linha saliente, levemente ondulada, limitada nas partes externa e interna por sulcos paralelos, centro com finos sulcos concentricos, ondulado radialmente, o que resulta em depressões e saliências radiais alternadas; a parte central adelgaçada por completo desaparecimento do mesofilo, a ponto de constituir uma fina membrana branca, translucida; nos casos extremos esta membrana desaparece, deixando uma perfuração no centro; as manchas são de coloração irregular, em conjunto parda escura avermelhada (*sorghum brown* a *Hay's brown*), o pigmento vermelho estendendo-se aos tecidos sãos, vizinhos, dando-lhes um tom escuro (*dusky drab*) ; na face inferior as manchas têm o mesmo aspecto mas são um tanto mais claras e o pigmento vermelho se estende mais ao redor das manchas, no tecido são, que não torna tão escuro (*army brown*) como na face superior; medindo 1,5 × 4 mm de diametro, com a zona marginal pigmentada estendendo-se até 5 mm.

Frutificações reduzidas a pequenos maciços, a principio subcuticulares, posteriormente errumpentes, feitos de poucas celulas de paredes escuras; medindo 40-50 μ de diametro, por 16 μ de espessura. As conidias não foram vistas.

Maculis in foliis plerumque ad certas areas restrictis, regulatim ad apicem, amphigenis, rotundatis vel irregularibus, supra margine linea elevata, leviter ondulata cinctis, centro delicato, translucido vel perforato, irregulariter colorato, plus minusve brunneo-obscuro, rubicundulo, 1,5-4 mm latis. Fructificationibus ad massulas primo subcuticulares, postea erumpentes redactis, e cellulis paucis obscure-tunicatis compositis, 40-50 × 16 μ. Conidiis non visis.

Distribuição: Causando a doença "verrugose" das fôlhas e hastes da maniçoba (*Manihot glaziovii* MULL. ARG., Euforbiaceas), no Estado de Paraíba, Brasil e na Nicaragua, e da mandioca (*Manihot esculenta* CRANTZ), na República Dominicana e na Guatemala.

Especimens examinados:

Sôbre *Manihot glaziovii* MÜLL. ARG.

Município de Caiçara. Estado de Paraíba, Brasil, 18 de Novembro de 1939, J. DESLANDES (IB 3454, USM 74160, MSE 477, Tipo); Jardim Botanico, Rio de Janeiro, Brasil, 15 de Março de 1945, O. A. SILVA (IB 5477, JBRJ 54411); Nicaragua, Outono de 1944. Com. R. D. RANDS (IB 4871, USM 90019).

Sôbre *Manihot esculenta* CRANTZ.

Hato del Yaque, Santiago, República Dominicana, 6 de Novembro de 1931, R. CIFERRI (Mycoflora dominguensis), (IB 4775, USM 69181), Cuyotenango, Guatemala, Março de 1949, com. R. D. RANDS (IB 5361, USM 90817).

Observações: A doença, na mandioca *(Manihot esculenta)*, manifesta-se por manchas muito menores e mais claras. Nas hastes as lesões são pequenas, com os mesmos caracteres. Nos especimens examinados não encontramos frutificações, mas apesar das diferenças observadas julgamos dever incluí-los na espécie *S. manihoticola* até que o encontro de material com manchas fertis permita uma identificação mais exata.

A respeito da verrugose da mandioca, na República Dominicana, R. CIFERRI, numa carta de 21 de Novembro de 1931 a um dos autores (A. E. J.) escreve:

"A doença é muito estranha e, aparentemente, apareceu ultimamente nas plantações da Companhia Agricola Dominicana. Os caracteres são: aparecimento de manchas corticosas, pustulosas, nas hastes verdes, peciolos das fôlhas, nervuras centrais e também nos lados das fôlhas. O aspecto geral é o da verrugose das plantas citricas; as fôlhas são enrugadas e deformadas, os peciolos retorcidos, etc. O galho afetado, como também a planta tôda podem morrer. Eu nunca encontrei fungos cladosporioides, ou outras sortes de fungos. A doença é de maior difusão durante os periodos chuvosos. E' aparentemente epidemica mas muito irregular, ou, pelo menos, a difusão da doença é simultanea em muitos acres, em diversas secções do paiz".

14. *Elsinoë mulleri* sp. nov.

Estampa 4, *O - Q*

Manchas das fôlhas esparsas, anfigenas, irregulares, na face superior frequentemente reduzidas a uma area escura, mal delimitada, com pigmento avermelhado (*anilin black* a *blackish brown*), às vezes com centro mais claro, de aparência corticosa; na face inferior salientes, com margem impregnada de um pigmento vermelho que se estende aos tecidos sãos em volta da mancha, cujos contornos torna menos nitidos; parte central clara (*vinaceous buff*) de superficie irregular; medindo 0,8-3 mm de diametro.

Ascomas salientes, munidos, na parte externa, de um epitecio feito de celulas achatadas, de paredes escuras, em duas camadas, na parte interna de um pseudoparenquima um pouco mais claro; medindo 50-70 × 30-40 μ, quase completamente repletos de uns poucos ascos globosos, medindo aproximadamente 15 μ de diametro, e contendo até 8 ascosporos hialinos, munidos de 3 septos, com 10-12 × 3-4 μ.

Maculis in foliis sparsis, amphigenis, irregularibus, infra elevatis, margine colore rubro tincto cinctis, centro claro, superficie irregulari, 0,8-3 mm latis. Ascomatibus elevatis, exterius epithecio e duobus stratibus cellularum compressarum obscure-tunicatarum compositis tectis et intus e pseudoparenchymate clariore, 50-70 × 30-40 μ compositis, ascis paucis, globosis, 15 μ latis, octosporis, ascosporis hyalinis, 3 -septatis, 10-12 × 3-4 μ.

Distribuição: Causando a doença "verrugose" das fôlhas de *Polyscias guilfoylei* (Bull) L. H. Bailey (Araliaceas) na Venezuela e no Estado de São Paulo, Brasil.

Especimens examinados:

El Valle, Caracas, Venezuela, 18 de Novembro de 1940, A. S. Muller, Min. Agric. y Cria, Caracas, Venezuela. Herb. Micol. 3946 (IB 4569 USM 74116, MSE 480, Tipo), Santos, Estado de São Paulo, Brasil, Junho de 1932, J. Deslandes (IB 663, USM 90730), Praia da Enseada, Guarujá, Estado de São Paulo, Brasil, 6 de Novembro de 1944, A. A. Bitancourt 983 (IB 4833, USM 90731).

Observações: No especimen da Praia da Enseada, no Estado de São Paulo, as lesões são numerosas, salientes nas duas faces das fôlhas, com a parte central constituida por um tecido corticoso, liso e lusidio, frequentemente coalescente com o das lesões vizinhas e então formando areas irregulares de grande extensão; medindo 0,5 — 4 mm, maiores por coalescência.

15. *Sphaceloma phyllocalycis* sp. nov.

Estampa 5, *A - C*

Manchas localizadas unicamente ao longo dos dois lados das nervuras, coalescentes, epifilas, as maiores visiveis também na face inferior onde se reduzem a pequena área escura avermelhada (*dull Indian purple*), na face superior redondas ou arredondadas, ligeiramente salientes, com margem de côr parda aver-

melhada escura (*taupe brown* ou mais escura) e centro branco por esvaziamento do conteudo celular; medindo 0,2-0,8 mm de diametro.

Esporodoquios esparsos, bem salientes e envoltos pelos restos, rasgados, das paredes externas das celulas epidermicas do hospedeiro, compostos de um pseudoparenquima ligeiramente amarelado na parte externa, hialino na parte interna, com celulas isodiametricas, apenas um pouco mais alongadas na superficie onde constituem uma paliçada de conidioforos mal diferenciados; medindo 80-100 × 60 μ. Não foram vistas conidias.

Maculis in foliis semper secus nervos hinc inde sitis, coalescentibus, epiphyllis, circularibus vel rotundatis, vix elevatis, margine brunneo-rubeo obscuro cinctis, centro albo, 0,2-0,8 mm latis. Sporodochiis sparsis, bene elevatis, e pseudoparenchymate leviter exterius flavidulo, intus hyalino, cellulis superficialibus in palos conidiophororum vix definitorum ordinatis, 80-100 × 60 μ. Conidiis non visis.

Distribuição: Causando a doença "antracnose maculada da cerejeira do Rio Grande" nas fôlhas de *Phyllocalyx laevigatus* BERG., (Mirtaceas), no Estado de São Paulo.

Especimen examinado:

Itapecerica, Estado de São Paulo, Brasil, 5 de Março de 1944. A. A. BITANCOURT 979 (IB 4763, USM 90718, MSE 481, Tipo).

Observações: *Elsinoë chilensis* BITANCOURT (1945), *E. pitangae* BITANCOURT e JENKINS (1940) e *Sphaceloma psidii* BITANCOURT e JENKINS (1949), também atacam hospedeiros da familia das Mirtaceas. Os dois primeiros determinam lesões parecidas com as de *S. phyllocalycis*. A forma perfeita deste último, entretanto, ainda não foi encontrada. Quando isso acontecer será talvez possível incluir a nova espécie como sinonimo de uma das duas outras. Ela difere suficientemente de *S. psidii* para não ser nesta incluida.

16. *Sphaceloma sesseae* sp. nov.

Estampa 5, *D* - *J*

Manchas esparsas ou, mais comumente, distribuidas ao longo das nervuras ou na base das fôlhas, mais ou menos coalescentes, visiveis em ambas as faces da fôlha, arredondadas ou, mais frequentemente, irregulares, com as beiras salientes e bem definidas, o centro deprimido, não raro perfurado, ou então muito numerosas e pequenas, de contorno mal definido, sòmente visíveis numa das duas faces, de côr parda clara *(pinkish buff)*; medindo 0,2-2 mm de diametro. Nas nervuras, peciolos e galhos, as manchas são alongadas, às vezes numerosas e coalescentes, cobrindo boa parte dos orgãos, salientes e com os tecidos superficiais rasgados, descobrindo os tecidos internos, de estrutura espongiosa, frouxa.

Acervulos ou esporodoquios muito fracamente desenvolvidos, formados por pequenos grupos de celulas ou conidioforos alongados, alguns mais ou menos piriformes, com parte superior convergindo para o centro da frutificação, constituindo um pequeno cone subcuticular, errumpente, de côr amarela; medindo 15-40 × 10-15 μ; outras vezes coalescentes, cobrindo a superficie das lesões como um revestimento continuo, de côr parda. As conidias não foram vistas.

Maculis in foliis sparsis vel vulgo secus nervos aut ad basim laminae sitis, plus minusve coalescentibus, amphigenis, rotundatis vel saepius irregularibus, margine elevato, bene definito cinctis, centro depresso saepe perforato, brunneo-claro, 0,2-2 mm latis. Maculis in nervis, petiolis et ramulis elongatis, saepe numerosis et coalescentibus, elevatis, fissis, interiora patefacientibus. Acervulis vel sporodochiis nondum evolutis et e cellulis parvis congestis vel conidiophoris elongatis compositis, conum parvum subcuticularem erumpentem fulvum, 15-40 × 10-15 μ efformantibus, vel etiam coalescentibus superficiem macularum cooperientibus ad instar operculi continui brunnei. Conidiis non visis.

Distribuição: Causando a doença "verrugose do pau novo" nas fôlhas e hastes de *Sessea brasiliensis* TOLEDO (Solaneaceas), no Estado de São Paulo.

Especimens examinados:

Taipas, Estado de São Paulo, Brasil, 26 de Abril de 1936, A. A. BITANCOURT 390 (IB 2191, USM 72792), 12 de Maio de 1936, A. A. BITANCOURT 391 (IB 2200, USM 90080) e 26 de Junho de 1937, K. SILBERSCHMIDT (IB 2680, USM 74158); Horto Florestal, Cantareira, Estado de São Paulo, Brasil, 28 de Maio de 1946, E. RACT (IB 5029, USM 90719, MSE 484, Tipo).

Observações: O primeiro especimen, colhido em 1936 de um pé desprovido de flores ou frutos (IB 2191), foi erradamente classificado como ? *Croton* sp. (Euforbiaceas) e assinalado como tal pelos autores em 1937 (BITANCOURT e JENKINS 1936 (1937). Naquela época a espécie do hospedeiro ainda não tinha sido descrita por TOLEDO. A notavel semelhança do cheiro caracteristico deste especimen e dos dois outros colhidos na mesma localidade (IB 2200 e 2680), com o cheiro de *Sessea brasiliensis*, do especimen tipo (IB 5029), nos levou a consultar J. F. TOLEDO, que confirmou tratar-se da mesma espécie por êle descrita em 1940 (TOLEDO 1940). O especimen tipo foi assinalado em 1946 (BITANCOURT 1946).

E' este o primeiro representante das Elsinoaceas a ser descrito sôbre uma espécie de Solanacea.

Dois outros especimens de Solanaceas atacadas por uma antracnose maculada merecem ser assinalados aqui:

Cestrum sellowianum SENDTN., Bela Vista, Provincia de Corrientes, Argentina, 13 de Abril de 1937, H. S. FAWCETT e A. A. BITANCOURT (IB 2561, USM 72764) e *Cestrum alternifolium* (JACQ) O. E. SCHULTZ, Caracas, Venezuela, 10 de Março de 1939, A. S. MULLER e H. H. WHETZEL, Min. Agric. y Cria, Caracas, Venezuela, Herb. Mycol. 2956, com. WHETZEL (IB 4024, USM 73645, CU).

Nesses dois exemplares as lesões são muito parecidas com as da verrugose de *Sessea brasiliensis*. Por falta de frutificações do fungo causal, entretanto, não é possível dizer si se trata de *Sphaceloma sesseae*.

17. *Sphaceloma siphocampyli* sp. nov.

Estampa 5, *N - Q*

Manchas das fôlhas esparsas ou localizadas nas beiras do limbo, ou, mais comumente, sôbre a nervura principal de que podem cobrir tôda a parte inferior, por coalescencia; no limbo as manchas são anfigenas, arredondadas ou irregulares na face superior, com margem saliente, de coloração escura avermelhada (*taupe brown*) e centro deprimido, pardo claro (*pinkish buff*), na face inferior a margem escura é mais estreita; medindo 0,5-1,5 mm de diametro. Nas nervuras principais e nos peciolos as manchas, quando numerosas, coalescem, espessando marcadamente o orgão que apresenta então um aspecto corticoso. Nas hastes as lesões são grandes, arredondadas, com prolongamentos afilados caracteristicos, para cima e para baixo, intimamente justapostas e cobrindo grande parte dos orgãos atacados quando numerosas, mas nunca coalescentes; salientes na periferia, planas no centro ou levemente deprimidas por desaparecimento dos tecidos superficiais; medindo 1,5-8 × 1-3 mm

Acervulos sem contornos nitidos, localizados na parte central, adelgaçada, das lesões do limbo, alongados e dispostos em linhas paralelas nas nervuras, errumpentes, constituidos exteriormente por uma camada de celulas escuras, alongadas, formando uma paliçada de conidioforos intimamente coalescentes, medindo 12-18 × 4-6 μ, e que contrastam pela cor escura com os tecidos subjacentes, hialinos, de estrutura prosenquimatica. Não foram vistas conidias.

Maculis in foliis sparsis aut laminam marginantibus aut vulgo supra nervum primarium locatis amphigenis, rotundatis vel irregularibus, supra margine elevato obscuro-rubeo cinctis, centro depresso, brunneo-claro, 0,5-1,5 mm latis. Maculis in hastibus magnis, rotundatis, margine elevato cinctis, centro plano vel vix depresso, 1,5-8 × 1-3 mm. Acervulis male limitatis, erumpentibus, exterius e stratu unico cellularum obscurarum elongatarum palos conidiophororum intime coalescentium, 12-18 × 4-6 μ efformantes compositis. Conidiis non visis.

Distribuição: Causando a doença "verrugose" das fôlhas e hastes de *Siphocampylus macropodus* (THUNB.) G. DON, (Campanulaceas), no Estado de São Paulo.

Especimen examinado:

Cascata, Estado de São Paulo, Brasil, 18 de Janeiro de 1944. H. G. SAUER e K. SILBERSCHMIDT (IB 4738, USM 90720, MSE 485, Tipo).

18. *Sphaceloma uberabensis* sp. nov.

Estampa 6, *A - C*

Manchas das fôlhas usualmente distribuidas ao longo da nervura principal e das nervuras secundarias, coalescentes quando numerosas, redondas ou arredondadas, epifilas, as maiores, porém, visiveis também na face inferior das fôlhas pelo escurecimento dos tecidos e pela pronunciada saliência do reticulo das nervuras

mais finas que resulta da depressão do limbo foliar na área manchada; na face superior salientes na periferia que forma uma linha estreita de coloração parda (*Verona brown* ou *warm sepia*) lisa e de aspecto ceroso, planas ou levemente deprimidas no centro, que tem coloração cinzenta clara devido ao dessecamento e esvaziamento dos tecidos superficiais mais ou menos desagregados, e à presença das frutificações escuras do agente causal; nas manchas maiores, a parte seca, de côr cinzenta, constitue um anel em torno de um centro deprimido, finamente enrugado, de coloração escura (*clove brown*); medindo 1 a 6 mm de diametro.

Acervulos irregularmente distribuidos numa zona concentrica perto da periferia das lesões, subcuticulares, em seguida errumpentes, praticamente reduzidos a uma paliçada de conidioforos diretamente assentada sôbre a parede externa das celulas epidermicas, medindo 30-60 μ de diametro, às vezes maiores por coalescencia, com 17-22 μ de espessura; conidioforos intimamente coalescentes, irregularmente cilindricos ou clavados, com ou sem septos, de paredes escuras, medindo 12-20 × 4-6 μ. Não foram vistas conidias.

Maculis in foliis vulgo secus nervum primarium et nervos secundarios sitis, circularibus vel rotundatis, epiphyllis, margine elevato lineam angustam brunneam, laevem formante, aspectu cereo cinctis, centro plano vel vix depresso cinereo-claro. Acervulis subcuticularibus, postea erumpentibus, ad palos conidiophororum cellulis epidermicalibus directe insidentes 30-60 × 17-22 μ redactis; conidiophoris irregulariter cylindricis aut clavatis, aseptatis vel septatis, obscure-tunicatis, 12-20 × 4-6 μ. Conidiis non visis.

Distribuição: Causando a doença "antracnose maculada" das fôlhas de uma Dicotiledonea no Estado de Minas Gerais.

Especimen examinado:

Uberaba, Estado de Minas Gerais, Brasil, 18 de Maio de 1936, A. S. Muller (IB 2239, USM 72796, Tipo).

Observações: Baseados no especimen tipo, os autores assinalaram pela primeira vez este fungo em 1937 (Bitancourt e Jenkins 1936 (1937).

19. *Elsinoë valleae* sp. nov.

Estampa 6, *D* - *F*

Manchas das fôlhas, coalescentes quando numerosas, anfigenas, arredondadas ou irregulares, com margem sinuosa, levemente saliente de coloração escura (*anilin black*) avermelhada devido à presença de um pigmento que difunde nos tecidos sãos em torno das lesões; todos os tecidos superficiais, com exceção da periferia, têm as celulas esvaziadas, cheias de ar e secas, o que torna o tom geral da mancha branco sujo ou acinzentado; na face superior as manchas são visiveis apenas como uma área escura de contorno mal definido e de côr parda (*Natal brown*); medindo 0,8 × 3,5 mm de diametro.

Ascomas arredondados, escuros, pulvinados ou planos na parte superior, assentados diretamente no parenquima em paliçada, cheio de goma de ferida, do hospedeiro, compostos de um pseudoparenquima hialino e cobertos por um epitecio bem diferenciado, feito de celulas muito escuras, achatadas, constituindo uma camada de 4-8 μ de espessura; medindo 180-240 × 30-45 μ. Ascos em duas a três camadas ou irregularmente distribuidos no pseudoparenquima, globosos, com 18-22 μ de diametro; ascosporos hialinos, munidos de 1-3 septos, medindo 12-15 × 5-6 μ.

Maculis in foliis sparsis, numerosis coalescentibus. amphigenis, rotundatis, aut irregularibus, margine sinuoso vix elevato rubido cinctis, centro albo-sordido vel cinereo, 0,8 × 3,5 mm. Ascomatibus rotundatis, obscuris, pulvinatis vel planis, supra parenchymati in palos ordinati directe insidentibus, e pseudoparenchymate hyalino compositis, epithecio bene definito tectis, cellulis valde obscuris, compressis, stratum 4-8 µ crassum efficientibus, 180-240 × 30-45 µ. Ascis 2 - vel 3 - serialibus aut irregulariter intra cavitatem a pseudoparenchymate constitutam distributis, globosis, 18-22 µ latis, ascosporis hyalinis, 1-3 septatis, 12-15 × 5-6 µ.

Distribuição: Causando a doença "antracnose maculada" das fôlhas de *Vallea stipularis* MUTIS (Tiliaceas) na Colombia.

Especimen examinado:

Usaquen, Colombia, 3 de Outubro de 1939, G. QUINTANA OBREGÓN (IB 4936, USM 73736, Tipo).

Observações: E' este o primeiro representante das Elsinoaceas a ser descrito sôbre uma espécie de Tiliacea.

20. *Sphaceloma viticis* sp. nov.

Estampa 6, *G - I*

Manchas esparsas, às vezes localizadas na periferia do limbo, anfigenas, de contorno irregular, na face superior levemente salientes, com fina linha marginal de côr escura avermelhada (*anilin black*), com cerca de 0,1 mm de largura e centro pardo (*vinaceous buff* a *avellaneous*), deprimido. adelgaçado, às vezes reduzido a uma fina pelicula translucente ou perfurada; na face inferior as manchas têm os mesmos caracteres mas são mais claras e não têm linha marginal escura; 0,5-1,5 mm de diametro. Em certas fôlhas as manchas são muito numerosas e têm na face superior, coloração uniformemente escura *(anilin black)*.

Acervulos irregularmente distribuidos na superficie das lesões, errumpentes, constituidos por duas camadas de celulas escuras, as externas alongadas, medindo 15-20 µ de comprimento por 3-5 µ de largura na parte média que é ligeiramente dilatada. e ápice atenuado ou apiculado; formando uma paliçada de conidioforos assentados num pseudoparenquima hialino. pouco espesso, que, por sua vez, cobre um prosenquima hialino, dificil de distinguir dos tecidos do hospedeiro; medindo 30-60 µ de diametro, mas frequentemente muito maiores por coalescencia. Não foram vistas conidias.

Maculis in foliis sparsis, saepe ad marginem laminae locatis, amphigenis, irregulariter conformatis. supra leviter elevatis, margine linea angusta rubeo-obscura, 0,1 mm lato cinctis, centro brunneo, depresso, delicato vel perforato, 0,5-1,5 mm latis. Acervulis erumpentibus, e duobus stratibus cellularum obscurarum efformatis, externis elongatis, 15-20 × 3-5 µ, palos conidiophorum sustinentibus pseudoparenchymati hyalino parum crasso, 30-60 µ lato insidentibus. Conidiis non visis.

Distribuição: Causando a doença "antracnose maculada" das fôlhas de *Vitex polygama* CHAM. (Verbenaceas) no Estado de São Paulo.

Especimen examinado:

Represa Nova, São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil, 11 de Janeiro de 1946, A. A. BITANCOURT 995 (IB 4999, USM 90721, MSE 486, Tipo).

ISOLAMENTOS CULTURAIS

As espécies seguintes foram isoladas em cultura pura: 124 D, *S. abutilonis* sôbre *Abutilon striatum* (IB 2807) ; 209 D, *S. aegiphilae*, sôbre *Aegiphila sellowiana* (IB 2873) ; 808 C, *S. bidentis* sôbre *Bidens pilosa* (IB 2384) ; 638 E, *E. diospyri* sôbre *Diospyros kaki* (IB 4612) ; 179 D, *S. erythrinae* sôbre *Erythrina reticulata* (IB 2873) ; 974 C, *S. fagarae* sôbre *Fagara coco* (IB 2562) ; 219 D, *S. fagarae* sôbre *Fagara riedelianum* (IB 2895) ; 775 D, *S. manihoticola* sôbre *Manihot glaziovii* (IB 3454) isolado por J. Deslandes, que cedeu gentilmente uma repicagem aos autores; 782 E, *S. phyllocalycis* sôbre *Phyllocalyx laevigatus* (IB 4763) ; 465 C, *S. sesseae* sôbre *Sessea brasiliensis* (IB 2191) ; 495 C, *S. uberabensis* sôbre Dicotiledonea (IB 2239) ; 983 C, *Sphaceloma* sp. sôbre *Cestrum sellowianum* (IB 2561) e 347 D, *Sphaceloma* sp. sôbre *Esenbeckia febrifuga*.

Alguns desses isolamentos, ainda viaveis no momento da preparação do presente trabalho, foram observados e comparados numa série paralela de cultura, juntamente com os isolamentos mencionados no primeiro trabalho desta série (BITANCOURT e JENKINS 1949, p. 107). As culturas foram feitas em São Paulo, em caixas de Petri de dupla tampa, do modelo usado pelo primeiro autor para cultivar fungos de crescimento lento em caixas de Petri (fig. *A*, Est. 7). O meio de cultura era o de batata dextrose agar (meio C, BITANCOURT e JENKINS 1942, nota 13) cuja preparação foi anteriormente descrita pelos autores. As culturas foram conservadas durante 50 dias num termostato à temperatura de 24° C, findos os quais foram feitas as leituras, que reproduzimos a seguir (Est. 7, figs. *C* — *J*) :

Cultura 124 D, *Sphaceloma abutilonis:* Talo pulvinado, de superficie levemente irregular, coberto por uma fina penugem branca amarelada (*cartridge buff*) a qual, em certas areas, como a parte central e a periferia, pode estar umedecida, deixando ver o talo, de coloração preta. Contorno circular. Na parte inferior o talo tem o centro branco e a periferia preta.

Cultura 808 C, *S. bidentis:* Talo convoluto, com sulcos radiais na parte periferica, que delimitam lobos marginais pouco marcados, produzindo uma margem irregular; coberto irregularmente por uma fina penugem branca que deixa ver a coloração preta do talo. A margem,

não coberta de penugem, é de cor preta e se prolonga, por hifas radiais, submersas no meio, e que em conjunto têm coloração parda clara (*cream buff*).

Cultura 118 D, *E. centrolobii:* Talo pulvinado, quase hemisférico, de superficie lisa, coberto na parte central por uma fina penugem branca, umido na periferia, que tem coloração parda escura avermelhada *(dark purple drab)* com margem estreita branca amarelada *(cartridge buff)*.

Cultura 901 C, *S. cupaniae:* Talo pulvinado, quase hemisférico, coberto de uma penugem branca, abundante principalmente na parte central e mais alta da cultura, mais curta na zona periférica, onde deixa ver a coloração escura do talo. Contorno circular, um tanto irregular.

Cultura 638 E, *E. diospyri:* Talo convoluto formando no centro um botão irregular saliente, periferia muito acidentada; coberto de uma penugem branca irregularmente desenvolvida, levemente colorida por um pigmento vermelho que difunde no meio de cultura em torno do talo; margem irregular.

Cultura 974 C, *S. fagarae:* Talo convoluto, de superficie irregular, coberto de penugem branca, mais rala no centro, cuja coloração parda escura deixa entrever; mais abundante na periferia, que tem contornos irregulares e estreita linha marginal glabra.

Cultura 219 D, *S. fagarae:* Talo pulvinado na parte central, que forma um botão saliente, hemisferico, coberto de penugem branca amarelada (mais clara que *pale pinkish buff*) ; convoluto na periferia, que é irregular e com penugem muito mais rala, deixando ver o talo de coloração preta. Margem irregular.

Cultura 315 D, *S. psidii:* Talo pulvinado, quase hemisférico, de superficie um tanto irregular, coberto de uma fina penugem branca, irregular e rala, que deixa ver a coloração parda clara do talo. Margem mais ou menos circular.

Repicagens das culturas que acabam de ser descritas foram depositadas no Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Holanda.

A cultura 465 C, de *S. sesseae* fôra incluida numa série paralela, comparativa, realizada pelo segundo autor em Dezembro 1941. Nessa série, *S. sesseae* tinha um talo convoluto (Est. 7 fig. *B*) e em Fevereiro tinha desenvolvimento abundante nos meios de batata dextrose agar e de batata agar de Thaxter (meio A, JENKINS e BITANCOURT 1942, nota 13). No primeiro não havia penugem e o meio não estava pigmentado, a coloração era parda avermelhada (*vinaceous tawny*). No meio de Thaxter havia penugem rala e o meio achava-se

pigmentado; coloração parda *(cinnamon)*, nas partes não cobertas de penugem.

Sobre caldo de carne o crescimento era restrito, como de costume para os fungos deste grupo, com desenvolvimento maior a pH 6,0 (0,7 cm de diametro) do que a 7,2 (0,5 cm de diametro). Nos dois casos a coloração era amarela rosea (*onion skin pink*).

Em 1945 a mesma cultura continuava a se desenvolver bem sobre meio de Thaxter mas o talo estava então pulvinado, em vez de convoluto e a cor era rosea palida *(livid pink)* tornando-se mais escura mais tarde (*Corinthian pink*).

Outras culturas citadas neste trabalho, examinadas pelo segundo autor em diversas épocas são: 974 C, *S. fagarae:* talo aparentemente convoluto na terceira repicagem, pulvinado na quarta, de côr palida. 347 D, *Sphaceloma* sp., de *Esenbeckia febrifuga*: talo convoluto na terceira repicagem, pulvinado na quarta; côr usualmente acinzentada no centro, parda *(pale brownish vinaceous)* na periferia.

A passagem do habito "convoluto" para "pulvinado" é comum nas culturas de Elsinoaceas conservadas em coleções por repicagens sucessivas e é devida à ocorrencia de saltações (BITANCOURT e JENKINS 1936, 1937).

STUDIES IN THE MYRIANGIALES
II. TWENTY NEW NEOTROPICAL SPECIES OF ELSINOACEAE

Abstract

Twenty new species of Elsinoaceae are described. Together with their hosts and country or countries of known distribution they are as follows: Sphaceloma abutilonis on Abutilon striatum Brazil; S. aegiphilae on Aegiphila sellowiana?, Brazil; S. amazonensis on an undetermined Bignoniacea, Brazil; S. bidentis on Bidens pilosa, Brazil; E. diospyri on Diospyros kaki, Brazil; S. ditremexae on Ditremexa hirsuta, Venezuela; E. erythrinae on Erythrina crista-galli and E. reticulata, Brazil; Sphaceloma fagarae on Fagara coco, Argentina, on F. hiemalis, Brazil and on F. riedeliana, Brazil; S. guatemalensis on Centropogon cordifolius, Guatemala; S. hoveniae on Hovenia dulcis, Argentina; S. jatrophae on Jatropha curcas, Guatemala and Honduras; S. lobeliae on Lobelia hassleri, Brazil; S. manihoticola on Manihot glaziovii, Brazil and Nicaragua, and on M. esculenta, Dominican Republic and Guatemala; Elsinoë mulleri on Polyscias guilfoylei, Venezuela; S.

phyllocalycis on Phyllocalyx laevigatus, Brazil; S. sesseae on Sessea brasiliensis, Brazil; S. siphocampyli on Siphocampylus macropodus, Brazil; S. uberabensis on an undetermined host (Dicot.), a shrub, Brazil; E. valleae on Vallea stipularis, Colombia; S. viticis on Vitex polygama, Brazil. Among these new pathogenic species isolations have been made from S. abutilonis, S. aegiphilae, S. fagarae, S. manihoticola, S. phyllocalycis, and S. sesseae. E. diospyri, S. lobeliae, S. sesseae and S. valleae are the first members of the Elsinoaceae to have been described on species of Ebenaceae, Lobeliaceae, Solanaceae and Tiliaceae, respectively. S. guatemalensis and S. siphocampyli are the first members of the family to have been described on species of Campanulaceae.

BIBLIOGRAFIA

BITANCOURT, A. A. — 1943 — Antracnose do caquizeiro. *Biológico*, S. Paulo 9: 155 (Nota).

BITANCOURT, A. A. — 1945 — Novas espécies sul-americanas do gênero Elsinoë. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 16: 19-26.

BITANCOURT, A. A. — 1946 — Verrugose (Sphaceloma) em mudas de "Sessea". *Biológico*, S. Paulo, 12: 197 (Nota).

BITANCOURT, A. A. & A. E. JENKINS — 1936 — Variações de Elsinoë australis Bitancourt & Jenkins. *Rodriguesia*, 2 (Numero especial. Annaes da Primeira reunião de Phytopathologistas do Brasil): 315-317, 1936 (1937).

BITANCOURT, A. A. & A. E. JENKINS — 1937 — Sweet orange fruit scab caused by Elsinoë australis. *Journ. Agr. Res.* 54: 1-18.

BITANCOURT, A. A. & A. E. JENKINS — 1938 — New species, hosts, and distribution records of Elsinoë and Sphaceloma. *Chron. Bot.*, 4: 388-389.

BITANCOURT, A. A. & A. E. JENKINS — 1940 — Novas espécies de "Elsinoë" e "Sphaceloma" sôbre hospedes de importância economica. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 11: 45-58.

BITANCOURT, A. A. & A. E. JENKINS — 1941 — Treze novas espécies de "Elsinoë" do Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 12: 1-20.

BITANCOURT, A. A. & A. E. JENKINS — 1942 — New discoveries of Myriangiales in the Americas. *Proc. Amer. Sci. Cong. 8th*, Washington, 1940: 149-172.

BITANCOURT, A. A. & A. E. JENKINS — 1946 — Observações sôbre especies do gênero "Elsinoë" de Uganda. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 17: 47-54.

BITANCOURT, A. A. & A. E. JENKINS — 1949 — Estudos sôbre as Miriangiales I. Dez novas espécies de Elsinoaceas descobertas no Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 19: 93-110, ilus.

CHARDON, C. E. & R. A. TORO — 1934 — Mycological explorations of Venezuela. *Monog. Univ. Puerto Rico. Ser. B. Phys. and Biol. Sci.*, 2: 353 p.

JENKINS, A. E. & A. A. BITANCOURT — 1936 (1937) — Doenças das plantas causadas por fungos dos gêneros Elsinoë e Sphaceloma. *Rodriguesia*, (1936) 1 (número especial): 305-313. ilus.

STANDLEY, P. C. — 1949 — Flora de Guatemala. *Fieldiana: Botany* 6, 440 p.

STEBBINS, M. E. & W. J. ROBBINS — 1949 — Mineral oil and preservation of fungus cultures. *Mycologia*, 51: 632-636.

TOLEDO, J. F. — 1941 — Sôbre a presença no Brasil, do gênero Sessea Ruiz et Pavon. *Arq. de Botan. do Est. de S. Paulo*, nova série. 1: 64-70. ilus.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 1

Figs. *A* — *E.* — *Sphaceloma abutilonis* sôbre *Abutilon striatum* (tipo), mostrando lesões sôbre uma fôlha, face superior (*A*, × 1) e face inferior (*B*, × 1), e uma haste (*C*, × 5); *D*, detalhes de *A*, *a*, × 5; *E*, *a*, frutificação em forma de um pseudoparenquima hialino bem desenvolvido, *b*, celulas epidermicas e *c*, tecido interno da fôlha, × 500.

Figs. *F* — *G.* — *S. aegiphilae* sôbre *Aegiphila sellowiana?* (tipo), mostrando lesões sôbre a face superior de uma fôlha (*F*, × 5); *G*, frutificação, × 500.

Figs. *H* — *J.* — *S. amazonensis* sôbre uma Bignoniacea (tipo), mostrando muitas pequenas lesões sôbre a face inferior de uma fôlha (*H*, × 1), uma frutificação (*I*, × 500), e detalhes de lesões (*J*, × 5).

Fig. *K* — *Sphaceloma* sôbre uma Bignoniacea da Guiana Holandesa × 5.
Fot. R. L. TAYLOR *(A - D, F, H, J* e *K)* e BITANCOURT *(E, G* e *I)*.

Estampa 2

Figs. *A* — *C.* — *Sphaceloma bidentis* sôbre *Bidens pilosa* (tipo) mostrando cancros sôbre uma haste (*A*, × 1; *B*, × 5) e uma frutificação (*C*, × 500).

Figs. *D* — *F.* — *Elsinoë diospyri* sôbre *Diospyros kaki* (tipo), mostrando manchas inconspicuas sôbre uma fôlha (*D*, × 1, *E*, detalhe de *D*, *a* × 5) e um ascoma (*F*, × 500).

Figs. *G* — *I.* — *S. ditremexae* sôbre *Ditremexa hirsuta* (tipo), mostrando lesões sôbre vagens (*G*, × 1; *H*, × 5), e parte de uma frutificação (*I*, × 500).

Figs. *J.* — *M.* — *S. erythrinae sôbre Erythrina reticulata* (tipo), mostrando manchas sôbre uma fôlha, face superior (*J*, × 1; *K*, detalhe de *J*, *a* e *b*, × 5) e frutificação (*M*, × 500); sôbre *E. crista-galli*, frutificação (*L*, × 500).
Fot. R. L. TAYLOR *(A, B, D, E, G, H, J* e *K)* e BITANCOURT *(C, F, I, L* e *M)*.

Estampa 3

Figs. *A* — *K.* — *Sphaceloma fagarae A - G*: mostrando lesões sôbre fôlhas de *Fagara riedeliana* (tipo), face inferior (*A*, × 1 e *B*, parte de *A*, *a* × 5) e face superior (*C*, parte de *A*, *b*, × 5), sôbre haste (*D*, × 5) e frutificações (*E - G*, × 500); sôbre *Fagara hiemalis*, (*H*, e *I*) e *F. coco* de Argentina, 1919 *(J)* e 1937 *(K)*. *H*, lesão sôbre uma fôlha × 5; *I*, frutificações, × 500; *J*, lesões sôbre uma fôlha, × 5; *K*, uma frutificação, × 500.

Figs. *L* — *N.* — *S. guatemalensis* sôbre *Centropogon cordifolius* (tipo), mostrando lesões sôbre a face inferior de uma fôlha (*L*, × 1; *M*, detalhe de *L*, *a*, × 5), e uma frutificação (*N*, × 500).

Figs. *O* — *Q.* — *S. hoveniae* sôbre *Hovenia dulcis* (tipo), mostrando lesões na face superior de uma fôlha (*O*, × 1 e *P*, detalhe de *O*, *a*, × 5) e uma frutificação (*Q*, × 500).
Fot. R. L. TAYLOR *(A - D, H, J, L, M, O* e *P)* e BITANCOURT *(E - G, I, K, N* e *Q)*.

Estampa 4

Figs. *A* — *C.* — *Elsinoë jatrophae* sôbre *Jatropha curcas* (tipo), mostrando lesões conspicuas sôbre a face superior de uma fôlha (*A*, × 1; *B*, × 5) e um ascoma (*C*, × 500).

Figs. *D* — *F.* — *Sphaceloma lobeliae* sôbre *Lobelia hassleri* (tipo), mostrando lesões sôbre uma fôlha (*D*, × 1; *E*, × 5) e uma frutificação (*F*, × 500).

Figs. *G* — *N.* — *S. manihoticola* sôbre *Manihot glaziovii* (tipo), mostrando lesões sôbre a face superior (*G*, × 1; *H*, detalhe de *G*, *a*, × 5) e a face inferior (*I*, × 1; *J*, face inferior de *H* e detalhe de *I*, *a*, × 5) de uma fôlha e uma frutificação (*K*, × 500); sôbre *Manihot esculenta*, mostrando lesões sôbre uma fôlha (*L*, × 1, *N*, detalhe de *L*, *a*, × 5) e uma haste (*M*, × 1).

Figs. *O* — *Q.* — *Elsinoë mulleri* sôbre *Polyscias guilfoylei* (tipo), mostrando lesões sôbre a face inferior de uma fôlha (*O*, × 1; *P*, detalhe de *O*, *a* × 5) e um ascoma (*Q*, × 500).

Fot. R. L. Taylor *(A, B, D, E* e *L - P)* e Bitancourt (*C, F, G - K* e Q).

Estampa 5

Figs. *A* — *C.* — *Sphaceloma phyllocalycis* sôbre *Phyllocalyx leavigatus* (tipo), mostrando lesões ao longo ou por cima da nervura principal, face superior de fôlhas (*A*, × 1; *B*, detalhe de *A*, *a*, × 5) e uma frutificação (*C*, × 500).

Figs. *D* — *J.* — *S. sesseae* sôbre *Sessea brasiliensis*, *D*, frutificações, × 500; *E*, lesões sôbre uma haste, × 1; *F*, parte de uma fôlha muito atacada, face inferior, × 1; *G* e *H*, detalhes de lesões sôbre fôlhas, face inferior (*G*, × 5) e face superior (*H*, × 5); *I* e *J*, lesões conspicuas e bem ferteis sôbre uma fôlha, face superior (*I*, × 1; *J*, detalhe de *I*, *a* × 5); *D*, *I* e *J*, IB 5029, da Cantareira, 28 de Maio de 1946 (tipo), *E* a *H*, IB 2200, de Taipas, 12 de Maio de 1936.

Figs. *K* — *M.* — *Sphaceloma* sôbre *Cestrum sellowianum*, *K*, face superior de uma fôlha, × 1; *L*, face inferior de uma fôlha, × 1, *M*, detalhe de *L*, *a*, × 5.

Figs. *N* — *Q.* — *S. siphocampyli* sôbre *Siphocampylus macropodus* (tipo), mostrando cancros de uma haste (*N*, × 1), lesões sôbre fôlhas (*O*, × 1; *P*, detalhe de *O*, *a*, × 5) e frutificações (*Q*, × 500).

Fot. R. L. Taylor *(I - P)* e Bitancourt *(A - H* e *Q)*.

Estampa 6

Figs. *A* — *C.* — *Sphaceloma uberabensis* sôbre uma Dicotiledonea arbustiva (Indet.) de Uberaba, Minas Gerais (tipo), mostrando sôbre a face superior de fôlhas muitas lesões conspicuas (*A*, × 1; *B*, × 5) e uma frutificação (*C*, × 500).

Figs. *D* — *F.* — *Elsinoë valleae* sôbre *Vallea stipularis* (tipo), mostrando poucas lesões grandes sôbre fôlhas, face superior (*D*, × 1; *E*, duas lesões vistas em *D*, *a*, × 5) e um ascoma (*F*, × 500).

Figs. *G* — *I.* — *S. viticis* sôbre *Vitex polygama* (tipo), mostrando lesões sôbre fôlhas, face superior (*G*, × 1; *H*, × 5) e uma frutificação (*I*, × 500).

Fot. M. L. F. Foubert (*A*), *R. L.* Taylor (*B, D, E, G* e *H*) e Bitancourt *(C, F* e *I)*.

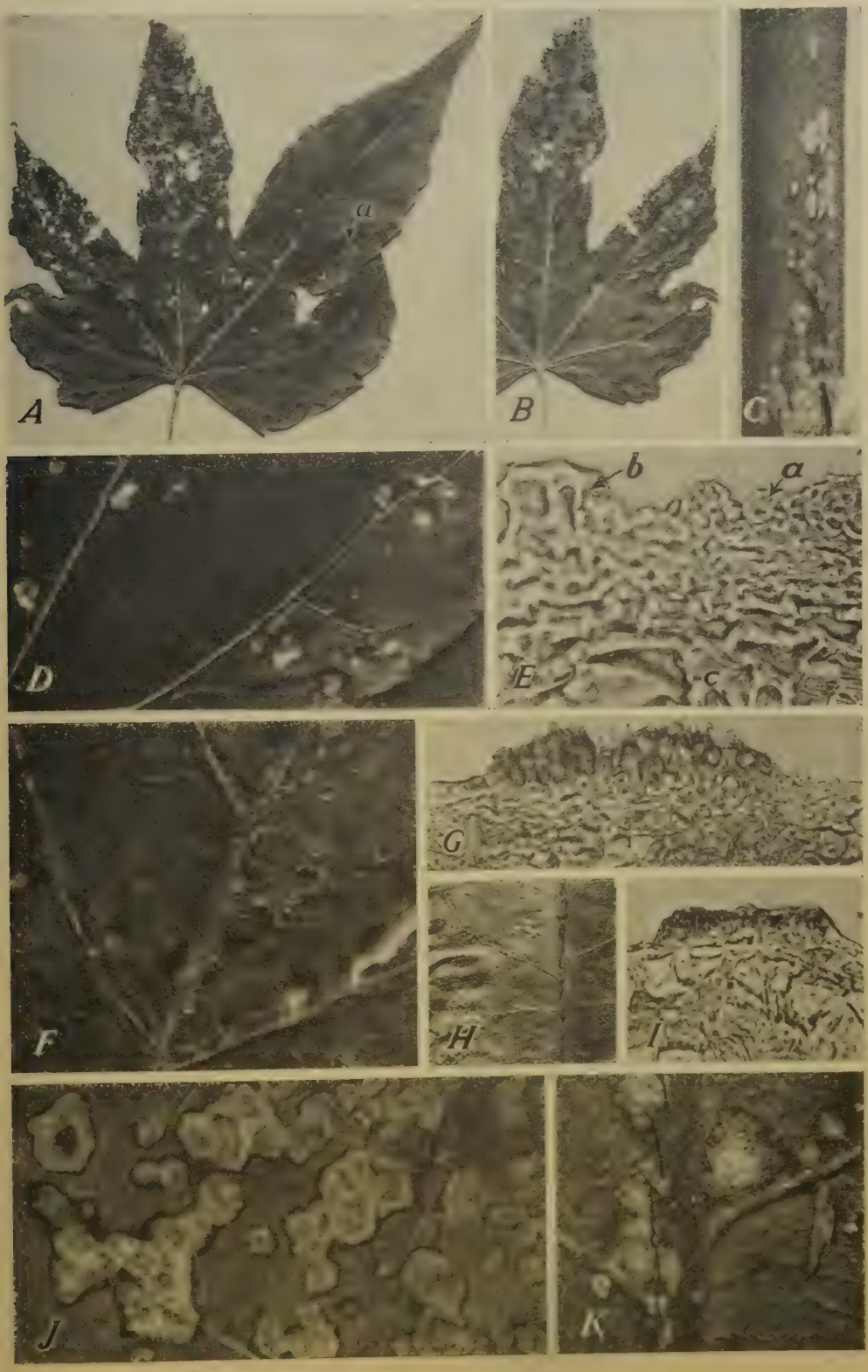
Estampa 7

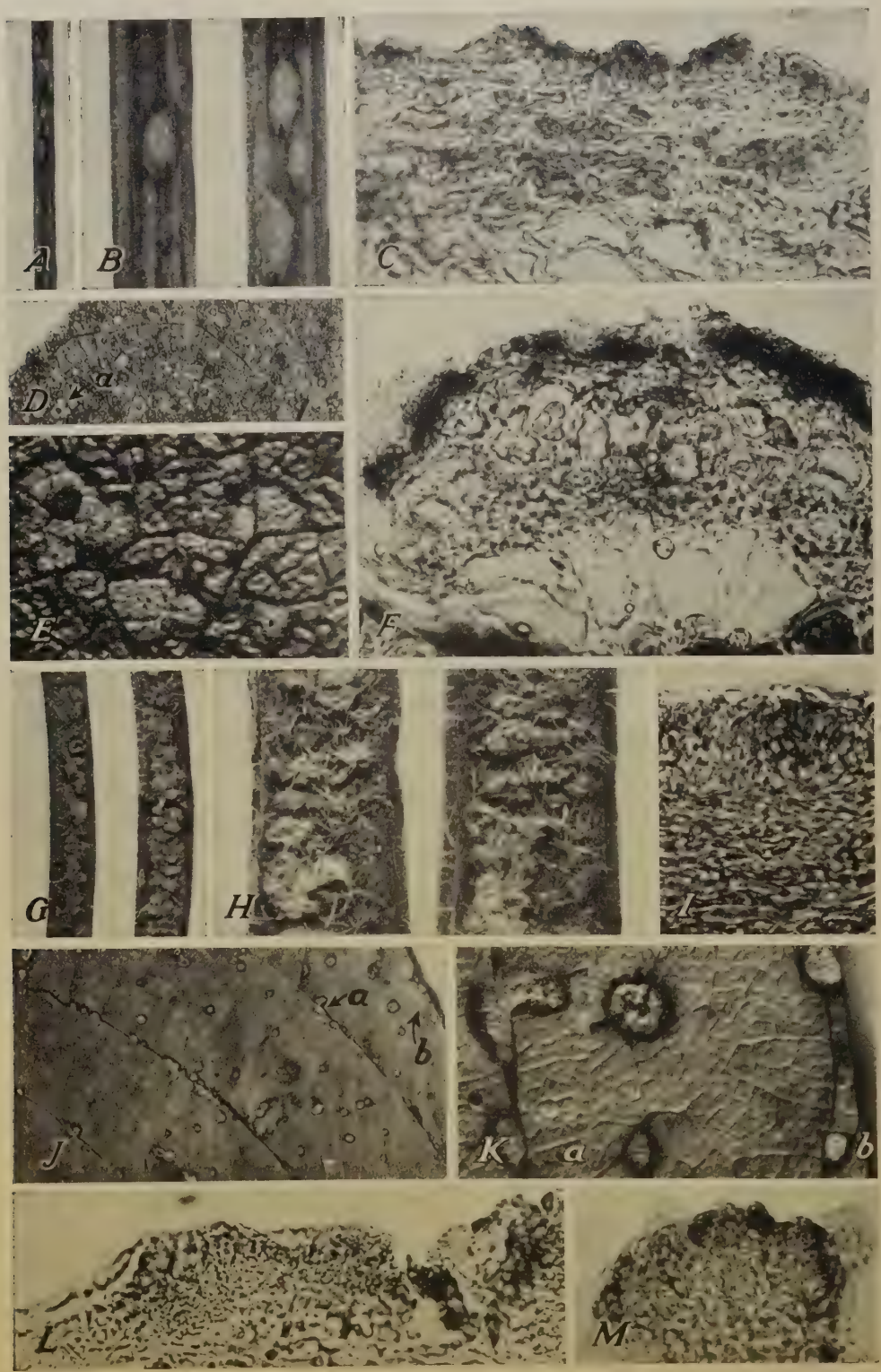
Fig. *A* — Caixa de Petri de dupla tampa, para cultura de microorganismos de crescimento lento (ligeiramente reduzido).

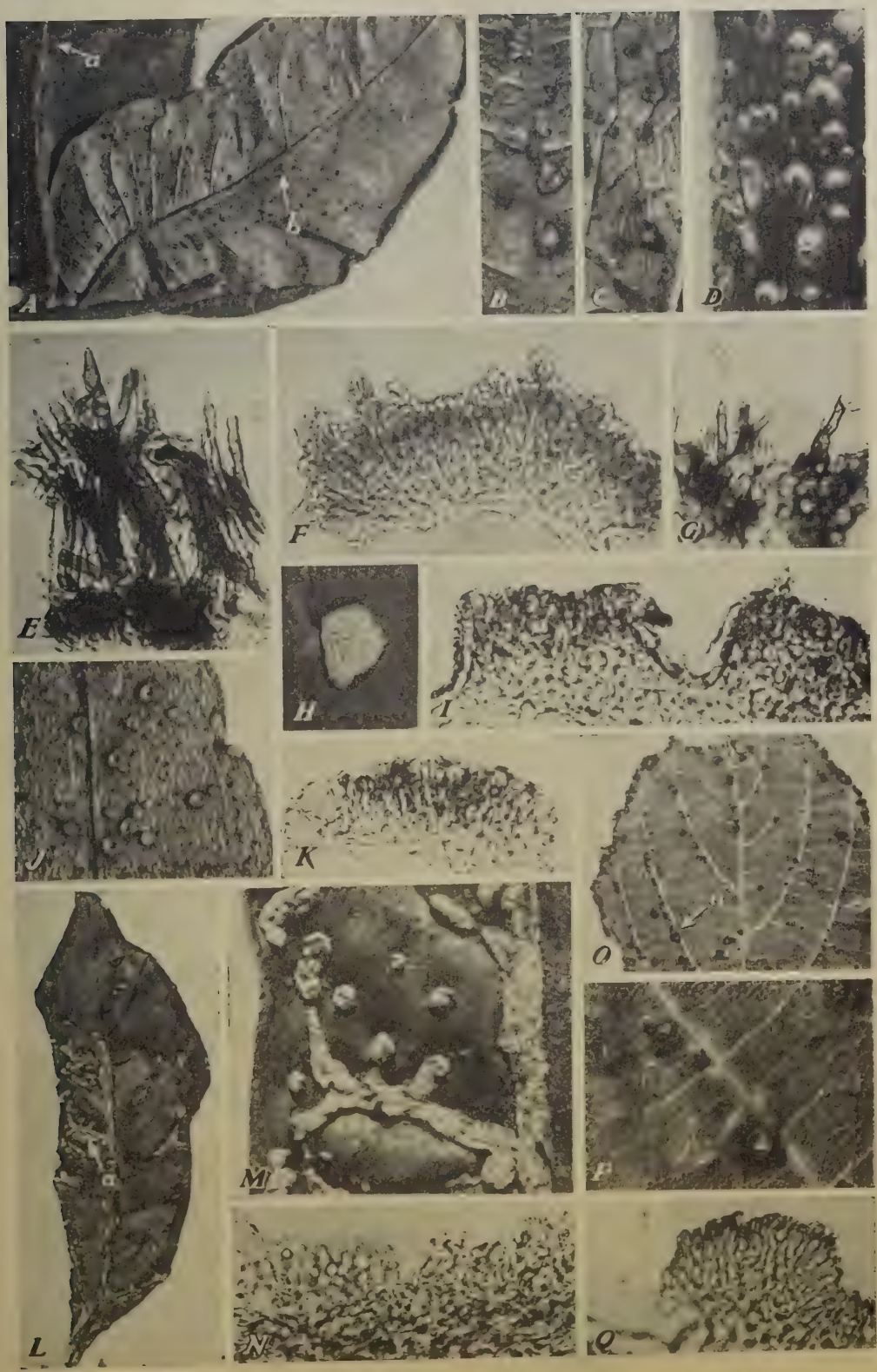
Fig. *B* — *Sphaceloma sesseae*, culturas (465-C) de 56 dias em meio de Thaxter à esquerda e de batata-dextrose à direita (ver o texto) (Tamanho natural).

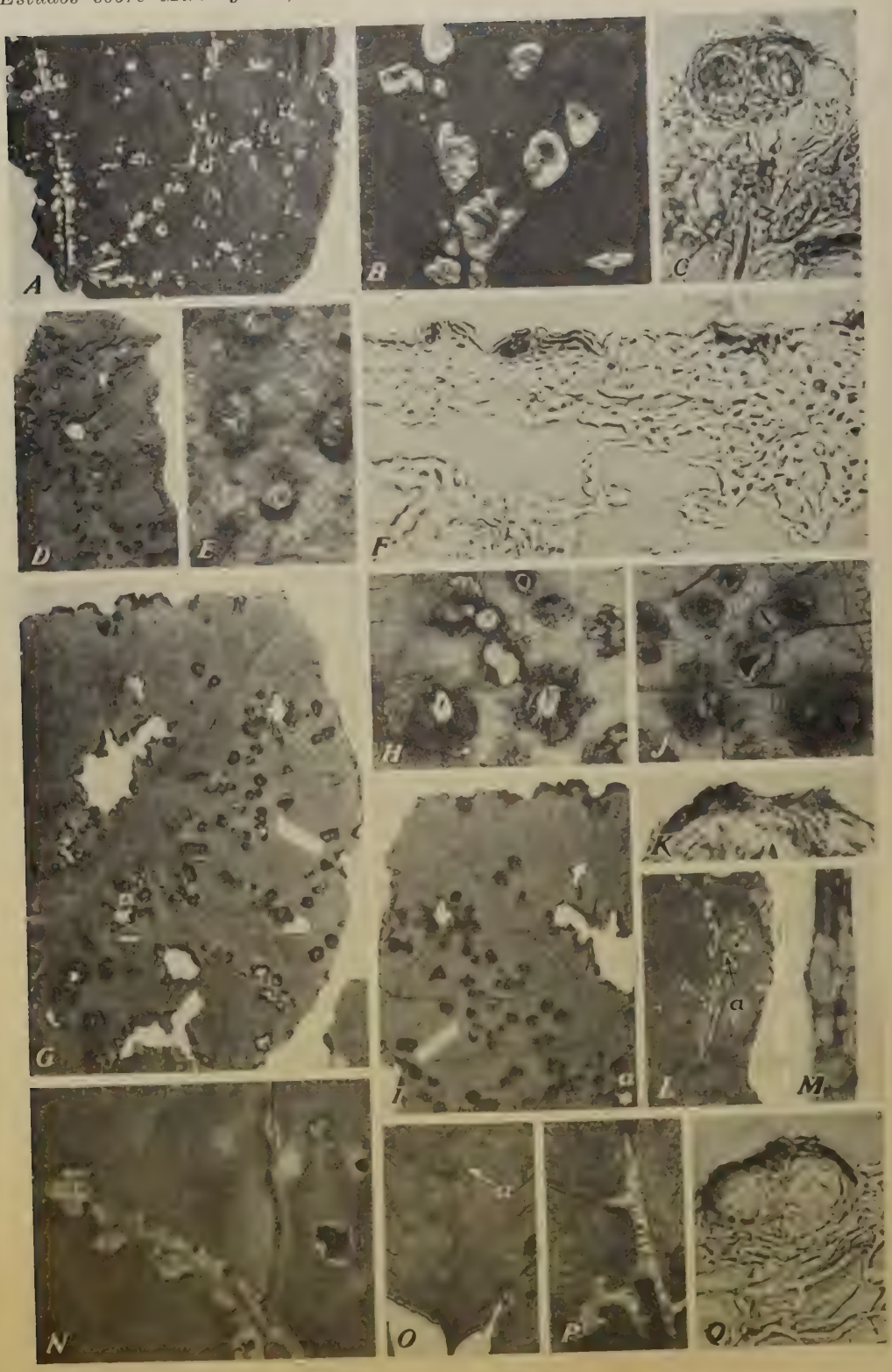
Figs. *C* — *J.* — Culturas de Elsinoaceas de 50 dias em meio de batata-dextrose-agar, desenvolvidas na temperatura de 24° C. *C*, *Sphaceloma abutilonis*, cult. 124 D; *D*, *S. bidentis*, cult. 808 C; *E*, *S. centrolobii*, cult. 118 D; *F*, *S. cupaniae*, cult. 901 C; *G*, *Elsinoë diospyri*, cult. 638 E; *H*, *S. fagarae*, cult. 974 C; *I*, *S. fagarae*, cult. 219 D; *J*, *S. psidii*, cult. 315 D. (tôdas T. N.).

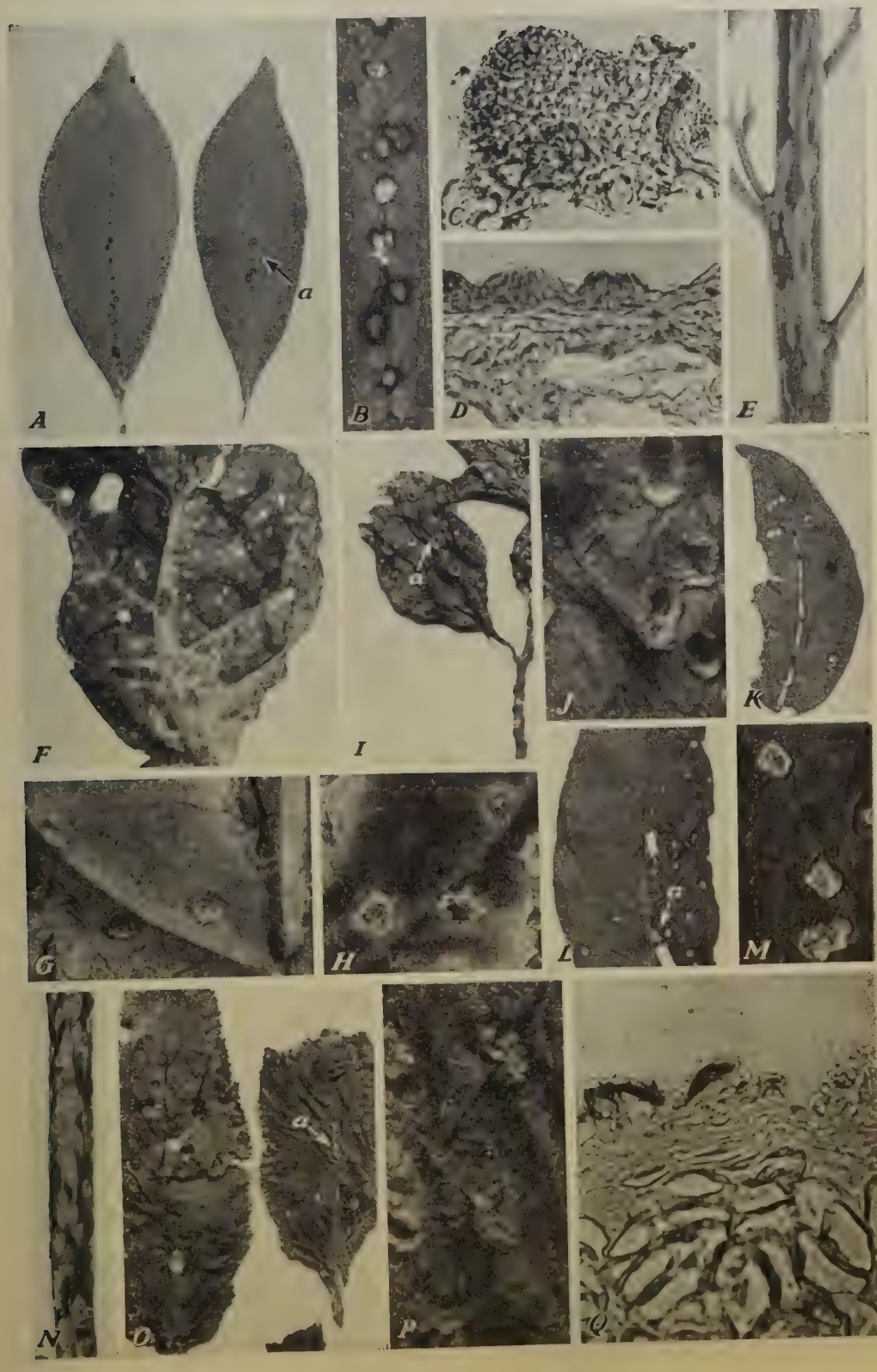
Fot. W. Rodrigues *(A, C - J)* e R. L. Taylor *(B)*.


a
A
B
C
D
b
a
E
c
F
G
H
I
J
K


A
B
C
D
a
E
F
G
H
I
J
a
b
K
a
b
L
M


a
b
A
B
C
D
E
F
G
H
I
J
K
L
M
N
O
P
Q


A
B
C
D
E
F
G
H
J
K
I
a
L
a
M
N
O
P
Q


A
a
B
C
D
E
F
I
a
J
K
G
H
L
M
N
O
a
P
Q

Vol. 20 — Art. 2 Novembro de 1950

ELSINOACEAS DO RIO GRANDE DO SUL

POR

A. A. Bitancourt e J. P. da Costa Neto

Do Instituto Biológico de S. Paulo
e da Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul

Com a estampa 8

Durante o mês de Abril de 1937, o primeiro autor, em companhia do Professor H. S. FAWCETT (1) da Estação Experimental de Citricultura, Universidade de California, Riverside, Estados Unidos, realizou uma excursão de estudos no Estado do Rio Grande do Sul, (FAWCETT e BITANCOURT 1937) tendo ambos colhidos diversos especimens de plantas atacadas de antracnose maculada, doença causada por fungos da familia das Elsinoaceas. No herbario do Laboratório de Biologia Agrícola da Secretaria da Agricultura do Estado do Rio Grande do Sul, dirigido pelo segundo autor, existem diversos especimens de plantas atacadas pelos mesmos fungos. O presente trabalho tem por fim enumerar tais especimens e descrever uma espécie nova de Elsinoacea, que ataca o "cinamomo" (*Melia azedarach* L.) (2)

Elsinoë ampelina (DE BARY) SHEAR

A "antracnose maculada da videira" (*Vitis* spp.), causada por êste fungo, é uma das doenças mais comuns e mais graves das videiras no Rio Grande do Sul.

Especimens examinados: sôbre *Vitis* hyb. (SEIBEL) (Vitaceas), propriedade de J. HERBSTRITH, Cachoeira do Sul, 25 de Novembro de 1945, A. PAIVA NETTO (IB 4966, RG 743); sôbre *Vitis vinifera* L. var. Pirovano 120; Garibaldi, 11 de Janeiro de 1944. A. PAIVA NETO (IB 4968, RG 844).

Elsinoë australis BITANC. & JENKINS

A "verrugose da laranjeira doce", causada por *E. australis*, é extremamente comum no Rio Grande do Sul. Como em outras regiões sul-americanas, ela ataca diversos *Citrus*, além da laranjeira

---

(1) Falecido em Dezembro de 1948.

(2) Os autores têm o prazer de consignar aqui os seus agradecimentos a Dra. ANNA E. JENKINS, por seu valioso auxilio no preparo do manuscrito e D. B. PICKEL pela tradução para o Latim da diagnose de *Sphaceloma meliae*.

Na citação do material examinado são empregados os simbolos usados por BITANCOURT e JENKINS em recente publicação (1950); assim, o herbario da Secção de Fitopatologia Geral do Instituto Biologico é referido por "IB" e o das Coleções Micologicas do Bureau of Plant Industry por "USM". O herbario do Laboratório de Biologia Agrícola da Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul é referido por "RG". Os exemplares incluidos na coleção: JENKINS e BITANCOURT: Myriangiales selecti exsiccati, são mencionados com seus numeros respectivos precedidos de "MSE".

doce (*Citrus sinensis* OSB.). A forma perfeita, extremamente rara, foi encontrada no especimen de laranjeira doce var. "tangerina" (IB 2571) que é portanto o segundo em que esta forma foi constatada (BITANCOURT e JENKINS 1939, p. 129). O primeiro especimen tipo da espécie foi encontrado em laranjas doces da variedade Bahia, provavelmente proveniente de Torrinha, no Estado de São Paulo (BITANCOURT e JENKINS 1936).

E' do Rio Grande do Sul, datado de 1923, o mais antigo especimen de verrugose da laranjeira doce do Brasil (BITANCOURT e JENKINS 1937, p. 5), já que, da doença designada por NOACK por *Grind* em 1900, não se possue nenhum exemplar autentico (JENKINS e BITANCOURT 1939, p. 42).

Em 1936 SILVEIRA DA MOTA (1936) assim se referia à verrugose da laranjeira doce no Rio Grande do Sul: "Em nossas quase quotidianas inspecções nos *packing-houses* desta região, constatamos, porém, que grande maioria, senão mesmo a maior parte das frutas refugadas, como improprias à exportação, o são devido à presença das "manchas" causadas pelo mal fungico conhecido pela denominação comum de "verrugose ou sarna" dos Citrus. Enorme porcentagem das frutas refugadas nesses entrepostos de embalagem é constituida por laranjas que apresentam esse mal".

Posteriormente, FAWCETT e BITANCOURT (1937) afirmaram: "E' esta provavelmente a doença mais comum e pela sua generalidade, a mais grave que encontramos no Rio Grande do Sul. Tudo indica que ela existe neste Estado desde época bastante remota..."

A que é, talvez, a primeira cultura de uma Elsinoacea do Rio Grande do Sul, foi obtida por A. E. JENKINS em 6 de Maio de 1937, do especimen IB 2571 abaixo citado, enviado por FAWCETT e BITANCOURT logo após a colheita.

Especimens examinados: sôbre *Citrus sinensis* OSB. var. "tangerina" (Rutaceas), Chacara Petropolis, Montenegro, 9 de Abril de 1937, FAWCETT e BITANCOURT (IB 2571, RG 2886, USM 73704, MSE 37); sôbre *Citrus reticulata* BLANCO, tangerineira, Chacara A. Baptista, Bairro dos Pinheiros, Montenegro, 9 de Abril de 1937, FAWCETT e BITANCOURT (IB 2572, RG 2885); sôbre *Citrus aurantifolia* SW. limoeiro cravo (*Rangpur lime*), Chacara de Pedro Gallas, Bairro dos Pinheiros, Montenegro, 9 de Abril de 1937, FAWCETT e BITANCOURT (IB 2577, RG 2884, USM 72524); sôbre pé franco de laranjeira doce, *Citrus sinensis* OSB., Santa Maria, 10 de Abril de 1937, FAWCETT e BITANCOURT (IB 2579, RG 2883).

Sphaceloma bidentis Bitanc. & Jenkins

Este fungo, causador da "antracnose maculada do picão" (*Bidens pilosa* L.) (Bitancourt e Jenkins 1950), doença comum nêste hospedeiro em São Paulo, é provavelmente muito espalhado no Rio Grande do Sul e todo o Brasil Meridional.

Especimens examinados: sôbre *Bidens pilosa* L. (Compostas). Chacara L. Gemmer, Imigração, Montenegro, 9 de Abril de 1937, Fawcett e Bitancourt (IB 2567, RG 2888, USM 72766); Chacara Petropolis, Montenegro, 9 de Abril de 1937, Fawcett e Bitancourt (IB 2566, RG 2889, USM 90042); Bom Jesus, São Lourenço, 6 e 7 de Dezembro de 1948, J. A. Deslandes (IB 5440, USM 90733). Todos estes especimens são paratipos de *S. bidentis*.

Sphaceloma erythrinae Bitanc. & Jenkins

Este fungo é o agente da antracnose maculada das "suinãs" (*Erythrina reticulata* Presl) em São Paulo (Bitancourt e Jenkins 1950). Bitancourt e Jenkins incluiram nesta espécie o fungo que causa a antracnose maculada de *Erythrina crista-galli* L. no Rio Grande do Sul.

Especimen examinado: sôbre *Erythrina crista-galli* L. (Leguminosas) Taquarí, Outubro de 1941, J. P. Costa Neto (IB 4559, USM 90715, RG 477), paratipo de *S. erythrinae*.

Elsinoë fawcetti Bitanc. & Jenkins

A "verrugose da laranjeira azêda", causada por êste fungo, é provavelmente de introdução mais recente no Rio Grande do Sul que a da laranjeira doce, e por isso de distribuição menos extensa. Em sua viagem de 1937, Fawcett e Bitancourt (1937) sòmente a constataram em Viamão.

Especimens examinados: sôbre *Citrus limonia* Osb. (Rutaceas), limoeiro, Pareci Velho, 6 de Maio de 1943, A. Tocchetto, (IB 4967, RG 765); sôbre *Citrus aurantium* L., laranjeira azêda, São Leopoldo, 30 de Junho de 1945, A. Paiva Neto. (IB 4969, RG 905).

Sphaceloma meliae sp. nov.

Manchas das fôlhas esparsas, anfigenas, arredondadas ou irregulares, com fina orla marginal, saliente nas duas faces da fôlha, lusidia, de côr parda escura (*warm sepia*[3]) e centro branco ou levemente amarelado, deprimido, adelgaçado a ponto de reduzir-se a fina pelicula, por desaparecimento do mesofilo e justaposição

(3) RIDGWAY, R. Color Standards and color nomenclature 43 pp. ilus., Washington D. C., 1912.

das duas epidermes, não raro perfurado; medindo 0,3 × 1 mm de diametro. Manchas dos galhos, coalescentes quando numerosas, cobrindo então, porções consideraveis do orgão afetado, redondas ou um tanto alongadas, às vezes irregulares, com linha marginal saliente, lisa, da mesma côr que os tecidos sãos, ou preta (*blackish brown*), com leve tinta avermelhada; centro nitidamente delimitado da margem, deprimido, de superficie lisa ou finamente enrugada pela presença das frutificações do fungo causal, que podem escurecer o tom geral pardo claro (*pinkish buff*) da mancha; as maiores, em grande parte dilaceradas, ou desintegradas, deixando ver os tecidos subjacentes; medindo 0,5 - 4 × 0,3 - 3 mm, ou maiores por coalescencia.

Acervulos numerosos, dispostos na parte central da lesão, alongados no sentido do comprimento dos galhos, dispostos em linhas paralelas, no mesmo sentido, medindo aproximadamente 100 μ de comprimento por 50 μ de largura, errumpentes mas pouco salientes, permanecendo cobertos, na periferia, pelos restos da parede externa das celulas epidermais do hospedeiro, constituidos por um pseudoparenquima escuro, de 30 μ de espessura, cujas celulas, na parte externa, são mais alongadas, medindo 6-8 × 3 μ, e formam uma paliçada de conidioforos; o pseudoparenquima torna-se mais claro nas partes profundas, onde paulatinamente se transforma em prosenquima hialino. Não foram vistas conidias.

Maculis in ramulis sparsis, circularibus vel parum elongatis, interdum irregularibus, linea marginali elevata nigra cinctis, centro depresso, brunneo-claro, 0,5-4 × 0,3 - 3 mm.

Acervulis numerosis erumpentibus e pseudoparenchymate obscuro, 30 μ crasso, compositis, exterius e palis conidiophororum constitutis, in partibus profundis clarioribus paulatim in parenchyma hyalinum transeuntibus, 100 × 50 μ. Conidiis non visis.

Distribuição: causando a doença "verrugose" das fôlhas e hastes do "cinamomo" (*Melia azedarach* L., Meliaceas), no Estado do Rio Grande do Sul.

Especimens examinados: Estação Experimental, Osorio, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Dezembro de 1940. J. P. DA COSTA NETO (IB 4116, RG 235, USM 90717, MSE 478, Tipo); Correntes, Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, 8 de Abril de 1941, J. P. COSTA NETO (IB 5518, RG 238); Estação Experimental, Osorio, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, 6 de Abril de 1943, R. GOMES COSTA (IB 5519, RG 1445); Viamão, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, 4 de Novembro de 1948, J. R. J. FREIRE e N. K. LUZ (IB 5520, RG 2809); São Lourenço, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, 6 e 7 de Dezembro de 1948, J. DESLANDES (IB 5439).

A partir do especimen IB 4116 foi isolada uma cultura de *Sphaceloma meliae* caracteristica das culturas dos fungos deste grupo, com talos compactos, fortemente salientes na superfície do meio de cultura.

Sphaceloma perseae JENKINS

Provavelmente introduzida em abacateiros enxertados provenientes do Estado de São Paulo, esta espécie, que causa a "verrugose do abacateiro", (JENKINS 1934), já se encontra em pomares do Estado do Rio Grande do Sul onde tais introduções foram efetuadas, tendo sido assinalada pela primeira vez por FERREIRA LIMA (1937).

Especimen examinado: sôbre *Persea americana* MILL. Itacolomí, Gravataí, 6 de Novembro de 1942, J. P. COSTA NETO (IB 4970, RG 1248).

Elsinoë pitangae BITANC. & JENKINS

Este fungo causa a "antracnose maculada da pitangueira" (*Eugenia pitanga* KJ.) (BITANCOURT e JENKINS 1940). A ele BITANCOURT e JENKINS atribuiram tentativamente as lesões de antracnose maculada encontradas em uma planta silvestre do Rio Grande do Sul, então provisoriamente classificada como? *Stenocalyx sulcata* BERG. (*Eugenia sulcata* SPRING). Segundo J. F. TOLEDO (carta particular) entretanto, essa planta não pertence à especie em questão.

Especimen examinado: sôbre *Eugenia* sp. (Mirtáceas) Granja To-Hus, Viamão, 8 de abril de 1937, FAWCETT e BITANCOURT (IB 2570, RG 2887).

Sphaceloma rosarum (PASS.) JENKINS

A "antracnose maculada da roseira" cultivada, causada por esta espécie (JENKINS 1932), é provavelmente comum nas variedades suscetíveis, no Rio Grande do Sul.

Especimen examinado: sôbre *Rosa* sp. *cultae,* Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul, 19 de Janeiro de 1940, A. A. BITANCOURT 855 (IB 3492, RG 2882).

Antracnose maculada da herva-mate

Julgamos interessante assinalar aqui esta doença desta planta nativa (*Ilex paraguariensis* HOOK), de elevada importância economica para os Estados do sul do Brasil, por haver alguma probabilidade de ser ela causada por uma Elsinoacea. O especimen, entretanto, não apresenta frutificações do fungo causal que permitam a sua classificação.

Especimen examinado: hastes de *Ilex paraguariensis* HOOK. (Aquifoliaceas). Guaporé (Dois Lageados), Setembro de 1941, PEDRO FIALHO, (IB 4560, RG 1464).

ELSINOACEAE FROM RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL

Abstract

Elsinoë ampelina, (the cause of grape anthracnose), E. australis (sweet orange fruit scab), Sphaceloma bidentis (spot anthracnose of "picão", a common weed), S. erythrinae (spot anthracnose of "suinã", an ornamental tree), E. fawcetti (sour orange scab), S. meliae sp. nov. (spot anthracnose of Chinaberry), S. perseae (avocado scab), E. pitangae (spot anthracnose of Surinam cherry), S. rosarum (spot anthracnose of rose). A disease of "mate" (Ilex paraguariensis) with the characters of a spot anthracnose was also observed.

BIBLIOGRAFIA

BITANCOURT, A. A. & A. E. JENKINS — 1936 — The perfect stage of the sweet orange fruit scab fungus. *Mycologia*, 28: 489-495, ilus.

BITANCOURT, A. A. & JENKINS — 1937 — Sweet orange Fruit Scab caused by Elsinoë australis. *J. Agr. Res.*, 54: 1-18, ilus.

BITANCOURT, A. A. & A. E. JENKINS — 1939 — Ciclo evolutivo de "Elsinoë australis" Bitancourt & Jenkins, agente da verrugose da laranja doce. *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo, 10: 129-146, ilus.

BITANCOURT, A. A. & A. E. JENKINS — 1950 — Estudos sôbre as Miriangiales II. Vinte novas espécies de Elsinoaceas neotropicais. *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo, 20: 1-28, ilus.

FAWCETT, H. S. & A. A. BITANCOURT — 1937 — Relatório sôbre as doenças dos Citrus nos Estados de Pernambuco, Bahia, São Paulo e Rio Grande do Sul. *Rodriguesia*, 3: 213-236.

FERREIRA LIMA, A. D. — 1937 — Uma doença grave no abacateiro. *Rev. Agron.*, Rio Grande do Sul, 1: 486-489.

JENKINS, A. E. — 1932 — Rose anthracnose caused by Sphaceloma. *Jour. Agr. Res.*, 45: 321-337, ilus.

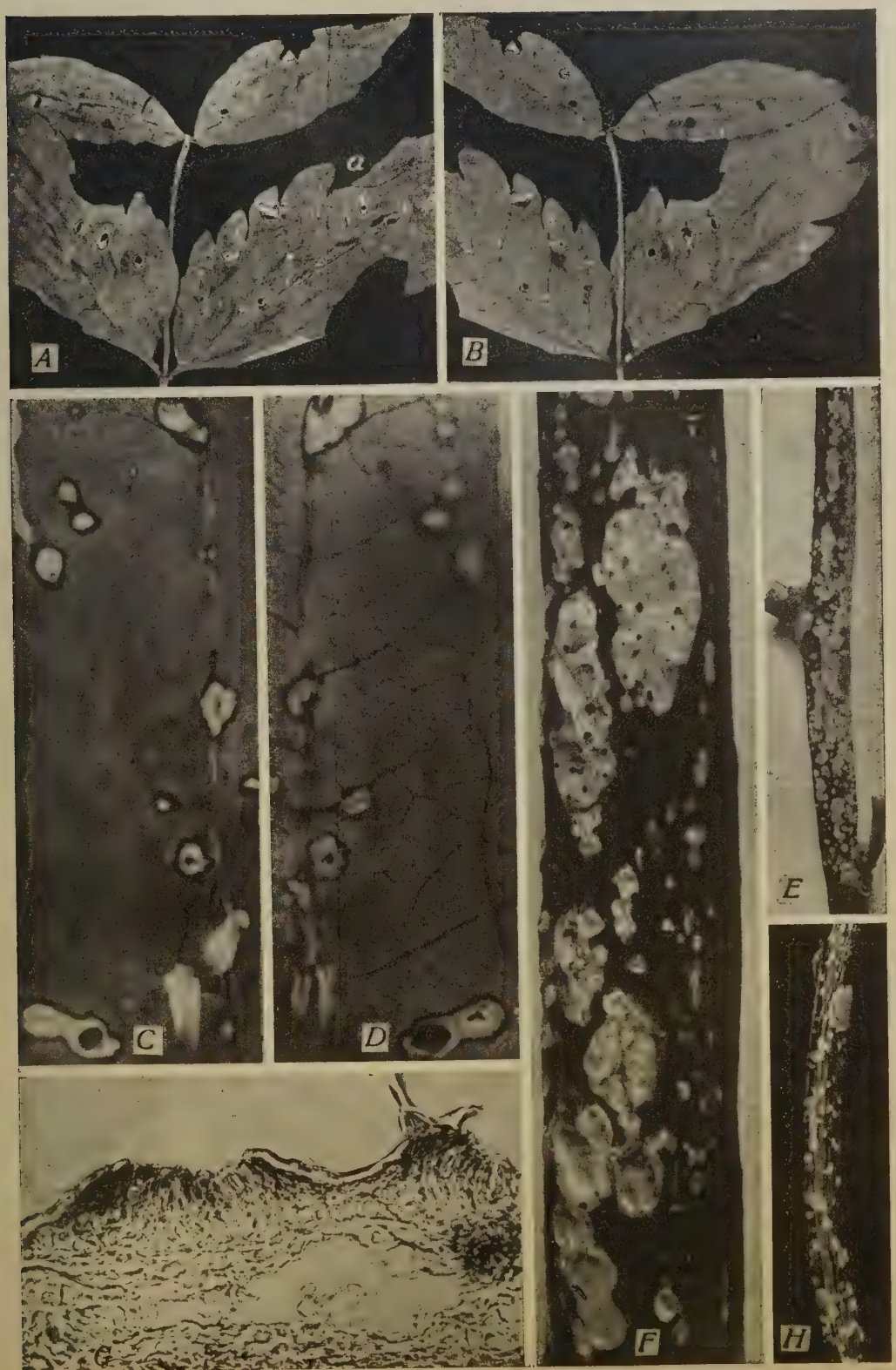
JENKINS, A. E. — 1934 — A species of Sphaceloma on avocado. *Phytopath.*, 24: 84-85. ilus.

JENKINS, A. E. & A. A. BITANCOURT — 1939 — Ilustrações das doenças causadas por "Elsinoë" e "Sphaceloma" conhecidas na America do Sul até Janeiro de 1936. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 10: 31-60, ilus.

SILVEIRA DA MOTA, J. — 1936 — A sarna ou verrugose das laranjas. Sua causa e meios de combate. *Diario de Noticias*, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Nov. 18.

EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA 8

Figs. A - G — Sphaceloma meliae sobre *Melia azedarach. A-B*, lesões sobre a face superior (*A*) e inferior (*B*) de uma folha do especimen de São Lourenço (IB 5439) × 1; *C-D* detalhe de *A*, *a* (*C*) e de *B* (*D*), × 5; *E-F*, lesões sobre um galho do especimen tipo (IB 4116) (*E*, × 1; *F*, × 5); *G*, frutificação do especimen tipo, × 500; *H*, lesões de antracnose maculada da herva mate, *Ilex paraguariensis*, × 1. Fot. W. Rodrigues (*A-D*, *H*), R. L. Taylor (*E-F*) e Bitancourt (*G*).


a
A
B
C
D
E
F
G
H

Vol. 20 — Art. 3 Novembro de 1950

AGROMIZIDEOS (DIPTERA) DO TOMATEIRO E DE ORQUÍDEAS

POR

A. da Costa Lima

Da Escola Nacional de Agronomia, Rio de Janeiro, D. F.

Com as estampas 9 e 10

Em junho de 1943, o Engenheiro Agronomo Eduardo R. de Figueiredo Jr. mandou-me exemplares de uma mosquinha, obtidos em Santos, Est. de São Paulo, de larvas que brocam raizes de orquídeas dos gêneros *Cattleya e Laelia.*

Com esse material, em más condições de conservação (n.º 9206 da coleção da Escola Nacional de Agronomia), pude apenas verificar ter em mãos uma *Agromyza (Melanagromyza)* (família *Agromyzidae*).

Em fevereiro do ano passado, ao receber especimes melhor conservados (material n.º 10212 da mesma coleção), fiquei em condições de determinar o inseto. Todavia, devido ao acumulo de serviço que tenho tido ultimamente, só agora me foi possível fazê-lo.

No intervalo das duas remessas enviaram-me, também para determinação, da Escola de Agronomia de Cali, Colombia, exemplares de outro Agromizideo, cujas larvas brocam o caule do tomateiro (material n.º 9520, da mesma coleção).

O estudo dos caracteres desta mosquinha leva-me a crer que se trate, senão da *Agromyza caerulea* MALLOCH, 1913, de espécie extremamente próxima, quando muito de uma subspécie colombiana. As diferenças que pude observar, aferindo-a pela descrição original daquela espécie, não me permitem distingui-la da *Agromyza caerulea*, embora esta tenha sido encontrada no México e no Texas e obtida de *Ipomoea.*

Eis a descrição de *A. caerulea:*

"Female: Frons black; center stripe opaque brown black, orbits and ocellar triangle glossy black; width of frons equal to slightly over one-third that of head; each orbit slightly less than one-fourth the breadth of center stripe; four strong orbital bristles present; the orbital pubescence not very conspicuous; frontal triangle fairly well defined, reaching over three-fourths of the way to lunule; lunule shining, brownish, with indications of whitish pollinosity; antennae small, black; dorsal bristle of second joint long; third joint not longer than broad; rounded at apex, pilosity pale, very short; arista thickened and tapering on basal fourth, pubescence distinct, slightly longer than basal diameter of arista, length of arista equal to from its base to upper orbital bristle; face short, black, concave in profile; cheek short, shining black, marginal bristles very numerous, strong, and irregularly arranged, not in a single row, carried upward beyond the level of the

weakly differentiated vibrissa; proboscis yellow at apex; palpi black, numerously inclining to brown-black on lateral margins; two distinct pairs of dorso-centrals present; disk covered with numerous short setulae; no distinct bristles between the posterior dorso-centrals; pleurae glossy blue-black, sutures and below wing base brown; squamae white, fringe concolorous; scutellum concolorous with disk of mesonotum, the marginal bristles subequal. Abdomen ovate, bronzy blue-black; first two segments short, the others subequal, all segments with short discal setulae, those on posterior margins of segments strong; base of ovipositor not longer than preceding segment. Legs strong, specially the femora, which are thickened; black, shining tibiae at base brownish; fore tibia with a strong bristle on posterior surface at below middle; the pair of bristles on posterior surface of mid tibiae strong. Wings clear, veins brownish yellow; second costal division about twice as long as first; subcostal veins indistinct; outer cross vein at slightly below wing middle, and at a little more than its own length from margin to wing on fifth vein, and from inner cross vein; veins 2-3 divergent, 3-4 slightly convergent at apices; inner cross vein at below junction of vein with costa, and middle of discal cell.

Halteres black, pedicel yellowish brown.

Length 3-4 mm.

Type: Cat. N.º 15584, U. S. N. M."

As femeas da serie de exemplares de Cali (n.º 9520 da coleção da Escola Nacional de Agronomia), apresentam quase todos os caracteres assinalados na descrição original de *A. caerulea*, exceto quanto aos seguintes: o mesonotum é de côr aenea esverdeada em cima e aos lados; as tibias são totalmente negras; as asas (estampa 8, fig. *A*) não são perfeitamente semelhantes à que foi apresentada por MALLOCH na fig. 13 do seu trabalho, principalmente quanto à direção das nervuras R_{4+5} M_1 (*3* e *4* de MALLOCH).

Pretendo enviar um dos nossos exemplares ao U. S. National Museum para ser comparado com o exemplar tipico de *Agromyza caerulea*. Se me forem indicadas outras diferenças de maior importancia, voltarei ao assunto.

Os caracteres dos exemplares remetidos por FIGUEIREDO JR. não permitem identificá-los com qualquer das espécies de *Agromyza* conhecidas. Trata-se, pois, ao nosso ver, de uma nova espécie, que passamos a descrever:

Agromyza (Melanagromyza) orchidearum, n. sp.

Estampa 9

Comprimento — 2 mm ou pouco mais. Cabeça, thorax e abdomen, negros, com fraco reflexo esverdeado, mais perceptível no abdomen e no torax.

Fronte, inclusive as orbitas, que são brilhantes, como o resto do corpo, com os lados convergentes até pouco mais ou menos a altura da lunula e aí um

pouco mais estreita que a distancia entre os limites interno e externo de cada olho; em cima, porém, imediatamente abaixo do ocelo mediano, tão larga ou pouco mais que essa distancia; triangulo ocelar com a superficie quase tão lisa e brilhante como a das orbitas e com a ponta prolongando-se até o meio, ou um pouco abaixo, da distancia entre o vertex e o limite superior da lunula; esta com cerca de ¼ dessa mesma distancia; genae na parte mais larga, aproximadamente $^1/_6$ da altura do olho, com a superficie, vista ao microscopio, distintamente espinhosa, com os espiculos imbricados uns sobre os outros e pouco mais curtos que o diametro de um omatidio; semelhante aspecto se observa nas cristas da facialia, na superficie da lunula e no espaço entre as orbitas e o triangulo ocelar; neste, esse aspecto estrutural vai desaparecendo, do vertice do triangulo para cima, ficando o resto da superficie praticamente lisa, isto é, revestida de pontas extremamente curtas e finas, somente perceptiveis com aumento muito forte; olhos nús; 4 fortes cerdas fronto-orbitais, 3 reclinadas e as do 4.º par (inferior) decussadas; daquelas, a maior é a intermedia, que é pouco mais curto que as verticais internas; a mais robusta do grupo das vibrissais, as post-ocelares e as verticais externas, aproximadamente do mesmo tamanho; as 4 ou 5 pequenas cerdas no meio da área ocelar, pouco mais longas que as pequenas cerdas esparsas que revestem as orbitas na metade inferior; estas cerdas são voltadas para cima e têm comprimento aproximadamente igual ao diametro de um ocelo; palpos relativamente curtos, com 2 cerdas apicais; antenas com o 3.º segmento ovalar, pouco mais desenvolvido que o antecedente, que tem uma cerda apical na parte dorsal pouco mais longa que ele; os 2 segmentos basais da arista extremamente curtos; o flagelo cerca de 6 veses o comprimento do 3.º segmento antenal, com a dilatação basal pouco mais extensa que o 3.º segmento, uniformemente piloso nos 2 sexos, com os pelos mais desenvolvidos pouco mais longos que o diametro da parte dilatada da arista.

Mesonotum e scutellum brilhantes; 2 pares de dorso-centrais e, entre elas, varias fileiras de acrosticais muito pequenas, irregularmente alinhadas até quase o scutellum; outras fileiras de pequenas cerdas, igualmente fracas, para fora daquelas, até as regiões pleurais; propleural, humeral, notopleurais, mesopleural e esternopleural (ambas acompanhadas de uma ou duas cerdas mais fracas), aproximadamente do mesmo tamanho; supra e post-alares relativamente fortes, mais que as dorso-centrais; escutelares do par apical menos robustas que as do par basal; estas mais fracas que as do par posterior de dorso-centrais.

Tibias anteriores com todas as cerdas do mesmo tipo; medias com duas cerdas mais robustas que as demais, uma aproximadamente no meio, a outra na união do terço distal com os $^2/_3$ proximais da tibia.

Asas como se observa na fig. *D* da estampa 9.

Abdomen também brilhante e revestido de pilosidade, cuja disposição pode ser apreciada nas figs. *E* e *F* da estampa 9.

Cótipos — Exemplares montados em alfinete, ns. 9206 e 10212 anteriormente referidos e o que se acha nas laminas correspondentes a esses numeros, respectivamente, preparados sob ns. 3137-3140 e 3460 e 3461.

AGROMYZIDAE (DIPTERA) OF TOMATO AND OF ORCHIDACEOUS PLANTS

Abstract

The author describes two species of flies of the family Agromyzidae. One, probably A. caerulea Malloch, 1913 was bred in Colombia from maggots mining stems of tomato. The other one — Agromyza orchidearum, a new species of that family, was bred and studied by the Eng. Agron. E. Figueiredo Jr. in the State of São Paulo, Brazil. The maggots mine roots of orchids.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

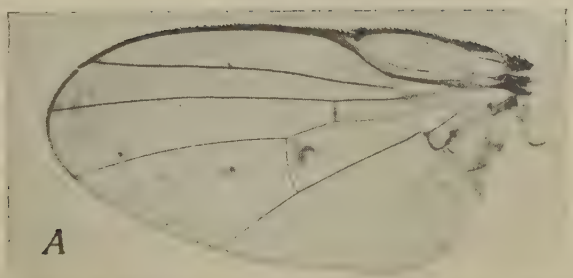
Estampa 9

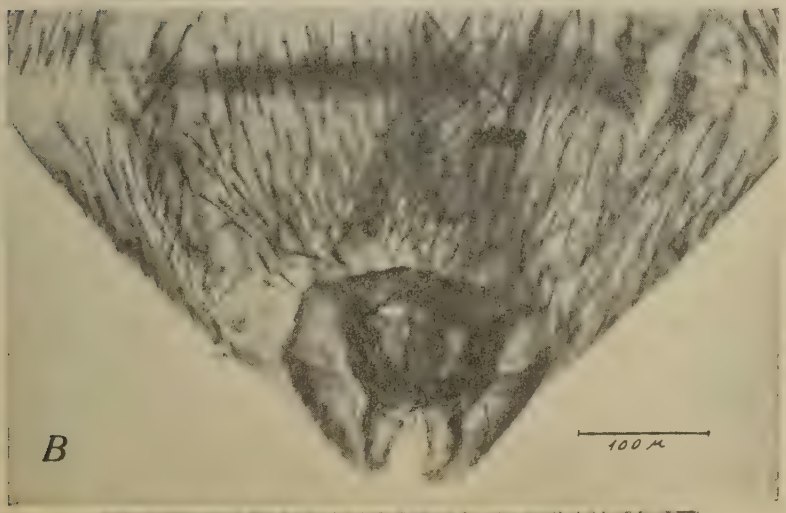
Fig. *A* — Asa de *Agromyza* (?) *caerulea* Malloch, 1913.
Fig. *B* — Parte apical do abdomen do macho de *A.* (?) *caerulea.*
Fig. *C* — Parte apical do abdomen da femea de *A.* (?) *caerulea;* no canto esquerdo, em baixo, uma das espermatecas.

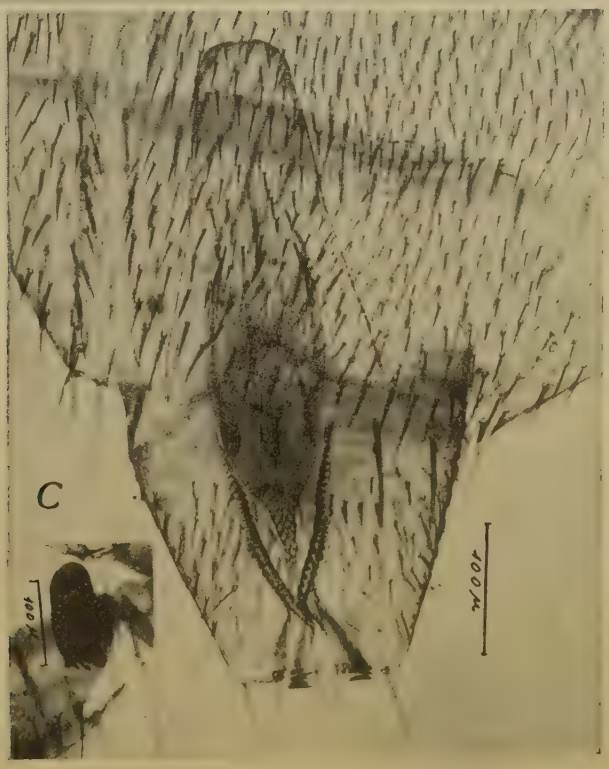
Estampa 10

Fig. *D* — Asa de *Agromyza orchidearum,* n. sp.
Fig. *E* — Parte apical do abdomen do macho de *A. orchidearum,* n. sp.
Fig. *F* — Parte apical do abdomen da femea de *A. orchidearum,* n. sp.

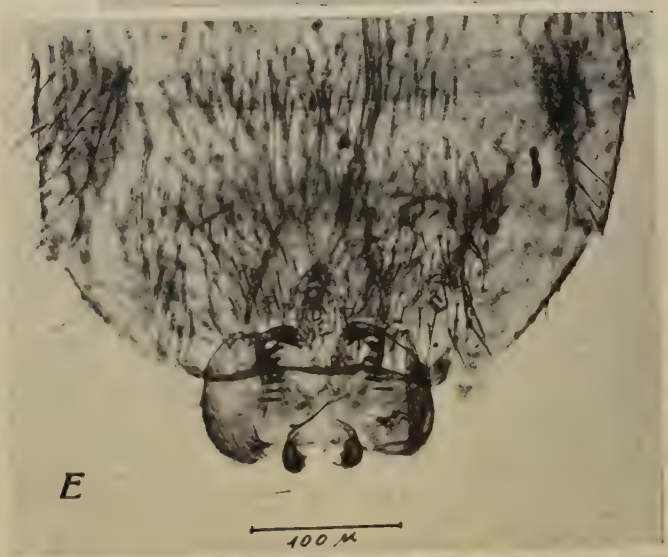
(Fotografias originais de C. Lacerda).


A


B
100 μ


C
100 μ
100 μ

D


E
100 µ

F
100 µ

Vol. 20 — Art. 4 Março de 1951

ESTUDOS SÔBRE A "TRISTEZA" DOS CITRUS.
II. SUSCEPTIBILIDADE DAS DIVERSAS COMBINAÇÕES DE ENXERTIA DE LARANJEIRA DOCE E LARANJEIRA AZÊDA (1)

POR

A. A. Bitancourt

Do Instituto Biológico de São Paulo

Com as estampas 11 - 17

Numerosas observações na Argentina e no Brasil mostraram que a tristeza ataca a laranjeira doce (*Citrus sinensis* Osb.) sòmente quando enxertada em laranjeira azêda (*C. aurantium* L.), ao passo que os pés francos de ambas as espécies permanecem sãos, mesmo quando plantados em pomares onde todos os pés enxertados, de laranjeira doce em laranjeira azêda, estejam intensamente atacados pela tristeza (BITANCOURT 1941-42). Mais notavel ainda é o fato de poderem ser salvos os dois componentes da enxertia, em plantas doentes, quando o mal não esteja muito adiantado. Para salvar a laranjeira azêda, por exemplo, basta suprimir a laranjeira doce, cortando a árvore doente um pouco abaixo da zona de enxertia: a laranjeira azêda brota, produzindo folhagem normal e sadia e pode em seguida ser novamente enxertada, com limoeiro por exemplo. Para salvar a laranjeira doce é necessário substituir o pião de laranjeira azêda por uma ou mais mudinhas de laranjeira doce, praticando-se com estas últimas a operação chamada "subenxertia", que consiste em inserir, debaixo da casca do tronco da árvore doente, um pouco acima da zona de enxertia, a parte superior da muda cortada em bisel. A muda é plantada junto da laranjeira doente, antes ou depois de praticada a subenxertia. Embora, na prática, sòmente se consiga salvar um dos dois componentes da enxertia, não resta dúvida de que com uma técnica apropriada deveria ser possível salvar a ambos. A "tristeza", pois, sòmente manifesta seus sintomas quando a laranjeira doce está enxertada em laranjeira azêda; mas mesmo nas plantas doentes qualquer dos dois componentes, quando isolado do companheiro, recupera a saúde.

Essa curiosa particularidade da tristeza, que constitue o único caso do gênero até hoje comprovado na patologia vegetal, suscita interessantes problemas que sòmente poderão ser resolvidos com uma investigação mais profunda da ocorrência da doença em plantas em que os dois componentes da enxertia se achem associados de tôdas as maneiras possíveis.

---

(1) Trabalho apresentado na Primeira Assembleia Latino-Americana de Fitoparasitologia. Cidade do Mexico, 25 de Setembro - 7 de Outubro de 1950.

O presente trabalho é uma contribuição para melhor conhecimento da ocorrência da tristeza nas diversas combinações de enxertia entre a laranjeira doce e a azêda. É o segundo de uma série em que estão relatados os resultados de pesquisas acerca dessa grave doença dos Citrus (BITANCOURT e RODRIGUES 1948).

Durante minha ausência, de Setembro de 1946 a Agosto de 1947, o pomar experimental onde se realizaram as experiências que fazem o objeto do presente trabalho ficou sob a responsabilidade da Dra. VICTORIA ROSSETTI, que nêle realizou observações adiante transcritas, e pelas quais consigno aqui os meus agradecimentos.

MATERIAL E METODO

As mudas utilizadas na experiência destinavam-se inicialmente, ou seja, em 1943, a uma experiência de transmissão da tristeza por terra infectada. As mudas plantadas em vaso e em seguida enxertadas, deviam receber, nos seus vasos, certa quantidade de terra retirada das proximidades das raizes de árvores atacadas de tristeza, em diversas zonas do Estado, na suposição de que essa terra poderia conter os germes de um agente causal da tristeza. Em 1944, os estudos feitos em São Paulo começaram a dar apoio cada vez mais forte à hipotese que fazia da tristeza uma doença de virus (BITANCOURT 1944) e os enxertos foram destinados a uma experiência de transmissão, por enxertia de borbulhas de plantas doentes. Em Setembro de 1945, diante do fato de outros enxertos, que tinham recebido semelhantes borbulhas em 1943, não apresentarem ainda sintomas de tristeza dois anos mais tarde (2), resolvi formar, com as mudas, um pomar onde a tristeza poderia ocorrer por infecção natural, ou ser transmitida por borbulhas de plantas doentes ou por qualquer outro método que viesse a ser descoberto.

A maior parte das mudas utilizadas na experiência provieram da Estação Experimental de Citricultura de Limeira e foram fornecidas em Maio e Outubro de 1943 e em Fevereiro de 1944; outras vieram das sementeiras do Instituto Biológico, em São Paulo, de onde foram retiradas em Outubro de 1944. As mudas tinham de 20 a 40 cm. de altura, e foram imediatamente plantadas em vasos, à razão de duas mudas para cada vaso, em alguns casos, ambas da mesma espécie, e em outros uma de cada espécie, ou seja, laranjeira doce e laranjeira azêda.

As plantas foram enxertadas por aproximação, a maior parte em Novembro de 1943 e Janeiro e Fevereiro de 1944; um pequeno número em Outubro de 1944. Depois de decorrido o tempo suficiente para o enxerto pegar, as mudas foram divididas em 11 grupos e tratadas da

(2) As mudas tinham sido conservadas durante todo êste tempo em estufas de vidro. As experiências então feitas mostraram que em semelhante situação os sintomas da tristeza não aparecem nem mesmo após um prazo de 4 anos. (BITANCOURT, em preparação).

seguinte maneira: grupo I; constituido sòmente de pares de laranjeiras doces, em cada vaso. Uma das mudas foi cortada logo abaixo da enxertia, a outra logo acima, obtendo-se dêsse modo um enxerto de laranjeira doce em laranjeira doce. Grupo II: sòmente de laranjeiras azêdas, tradadas da mesma maneira, resultando portanto em enxertos de laranjeira azêda em laranjeira azêda. Todos os demais grupos consistiram em enxertos de aproximação de uma laranjeira doce e uma laranjeira azêda. Grupo III: as plantas enxertadas não sofreram nenhuma intervenção. Grupo IV: a laranjeira doce foi cortada abaixo da enxertia, a laranjeira azêda, acima, donde resultou um enxerto de laranjeira doce em laranjeira azêda. Grupo V: a laranjeira azêda foi cortada abaixo, a doce acima, da enxertia, dando um enxerto de laranjeira azêda em laranjeira doce. Grupo VI: a laranjeira azêda foi cortada abaixo da enxertia, obtendo-se uma muda com raiz de laranjeira doce e copa dupla, de laranjeira doce e laranjeira azêda. Grupo VII: operando-se da mesma forma com a laranjeira doce obteve-se uma muda com raiz de laranjeira azêda e copa de doce e azêda. Grupo VIII: operou-se como para o grupo VII, praticando-se porém o corte acima da enxertia, resultando uma muda com copa de laranjeira azêda e raiz dupla, de doce e azêda. Grupo IX: o mesmo corte praticado na laranjeira azêda deu uma muda com copa de doce, e raiz de doce e azêda. Grupo X: como para o grupo V; porém em Novembro de 1943 e Janeiro de 1944 praticou-se uma segunda enxertia, na laranjeira azêda, com borbulha de laranjeira doce, obtendo-se dessa forma um "sandwich" de laranjeira doce em laranjeira azêda enxertada em laranjeira doce. Grupo XI: agindo da mesma forma com mudas tratadas como as do grupo IV, e sobreenxertadas com borbulhas de laranjeira azêda, obteve-se um "sandwich" de laranjeira azêda em laranjeira doce enxertada por sua vez em laranjeira azêda.

As mudas enxertadas foram transferidas dos vasos para seu lugar definitivo, no pomar experimental, em 18, 19 e 29 de Setembro de 1945. Foram plantadas 11 linhas, correspondentes aos 11 grupos acima descritos. Mais de dois ano depois que estavam plantadas em vasos, as mudas não tinham o desenvolvimento tão perfeito quanto se podia desejar, apesar do cuidado que se tivera em substituir com alguma frequência a terra dos vasos, por terra nova e rica, além de empregar vasos maiores á medida que as plantas cresciam. Além disso uma pequena porcentagem de plantas morreram nos vasos em consequência de uma podridão do pião, o que, pelo menos em alguns casos, era atribuivel a espécies de *Phytophthora* e que por isso afetou quase exclusivamente as mudas cujo porta-enxerto era de laranjeira doce.

Esses fatos impediram que alguns dos grupos fossem constituidos de 12 plantas, número que era o de cada linha do pomar experimental. O número final de árvores plantadas em cada linha ou grupo está mencionado na tabela 1, coluna 3.

RESULTADOS

Até Setembro de 1946 as árvores não apresentaram outros sintomas alem de diversos tipos de clorose, ligados a deficiências locais de elementos menores, sem maior significação, pois sòmente se manifestavam durante curtos periodos em pequenos grupos de fôlhas de uma ou outra árvore. As plantas se refizeram com bastante rapidez do estado de crescimento retardado em que se achavam nos vasos, apesar do ataque ocasional por insetos que comiam os brotos novos. A partir de Setembro de 1946 o pomar esteve sob a responsabilidade da Sta. VICTORIA ROSSETTI que, em principio de 1947, começou a observar os primeiros sintomas de tristeza em algumas das árvores e em Maio do mesmo ano anotou o estado de tôdas elas. As plantas dos grupos I, II, III e XI eram normais e viçosas, sem sintomas de doença, o mesmo acontecendo com as do grupo V, com exceção do pê n.° 7, que apresentava lesões de gomose de Phytophthora. As três plantas do grupo VI apresentavam uma leve clorose que podia ser tomada como sintoma inicial de tristeza. A primeira da fila mostrava além disso pronunciado desfolhamento. No grupo VII a maioria das árvores tinha uma copa normal, porém na planta 5 a copa de laranjeira doce estava desfolhada e a de azêda clorotica; na planta 7 a copa de azêda tinha morrido e a planta se reduzira a um enxerto de laranjeira doce em laranjeira azêda com sintomas típicos de tristeza. A planta mais interessante do grupo era a 11a, cuja copa de laranjeira doce apresentava sintomas típicos da tristeza ao passo que a folhagem da copa de azêda era normal, de coloração verde escura (Fig. C, estampa 17).

O grupo VIII tinha tôdas as suas plantas normais, com exceção da de número 4 que estava amarelecida. No grupo IX as plantas 5, 6, 7 e 8 apresentavam um leve amarelecimento, que podia ser tomado como um inicio de tristeza, o que se acentuava mais ainda na n.° 4, que parecia apresentar sintomas típicos de tristeza. As plantas dos grupos X e XI tinham folhagem normal, sem sintomas de tristeza.

Em 23 de Setembro de 1947 realizei observações finais e medí o diametro medio da copa e a altura das árvores. Em 11 de Novembro medí o diametro do tronco acima e abaixo da linha de enxertia, e em Janeiro realizei o teste do amido da casca do tronco, na zona de enxertia (BITANCOURT 1944).

De um modo geral os sintomas de tristeza eram muito nitidos nas plantas do grupo IV, ou seja os enxertos de laranjeira doce em laranjeira azêda. As árvores eram enfezadas e cloroticas. Em quase tôdas as árvores do grupo III, VI e VII, em que havia uma copa de laranjeira doce junto com copa de laranjeira azêda, esta última espécie estava bem mais desenvolvida que a laranjeira doce; em poucos pés as duas copas eram iguais ou a laranjeira doce era um pouco mais desenvolvida que a laranjeira azêda. No grupo VII (copa de doce e de azêda sôbre raiz de azêda) e no grupo IX (copa de doce sôbre raizes de doce e de azêda) as plantas mostravam sintomas de tristeza, na copa de doce, com enfezamento e amarelecimento da folhagem, porém menos acentuados do que no grupo IV de laranjeira doce em laranjeira azêda. Em todos esses casos havia um entumescimento bem visivel do tronco da laranjeira doce na altura da enxertia (Fig. D, Est. 13). O tronco e as raizes de azêda mostravam um desenvolvimento muito menor, o que deve ser interpretado como sintoma da tristeza nesta parte do vegetal (Fig. B, Est. 16).

Os dois grupos talvez mais interessantes eram os "sandwiches" de doce sôbre azêda sôbre doce (grupo X) e de azêda sôbre doce sôbre azêda (grupo XI). Ao passo que as duas plantas, componentes do primeiro, tinham desenvolvimento fraco, embora com folhagem de côr verde normal, as 11 plantas do grupo XI apresentavam um desenvolvimento excelente, sem nenhum sintoma de definhamento. No grupo X o tronco apresentava constrição notavel do sandwich de laranjeira azêda (Fig. D, Est. 16) ao passo que no grupo XI não era possível distinguir as duas zonas de enxertia (Fig. B, Est. 17).

As árvores dos grupos I, II, III, V, VI e VIII achavam-se tôdas em excelente desenvolvimento, sem nenhuma anormalidade na região de enxertia, que não se podia distinguir, por diferenças de diametro dos dois componentes.

As medições da copa e do tronco constam da tabela I. Tomando o diametro medio da copa como lado da base de um paralelepipedo cuja altura era a da árvore, calculei um volume que representa muito grosseiramente a cubagem da copa e permite comparações entre os diversos grupos. No calculo das medias foram desprezados, por diversos motivos, os dados relativos a algumas árvores. Entre êsses motivos está o fato de várias delas apresentarem podridão do pé, causada por *Phytophthora* spp. com um definhamento atribuível a essa doença e não á tristeza. Em outros casos, como os das árvores IV - 1 e IV - 3, houve franqueamento da árvore, ou seja desenvolvimento das raízes do enxerto plantado baixo. Foram desprezados igualmente os dados de certas árvores

TABELA I

Cubagem média da copa em dcm^3 e diametro medio do tronco em mm. das combinações de enxertia entre laranjeira doce e laranjeira azêda

Grupo	Combinação	Número de plantas		Cubagem da copa		Diametro do tronco na zona de enxertia			
						doce		azêda	
		Total	usado no calculo das medias	doce	azêda	acima	abaixo	acima	abaixo
I	doce/doce	12	11	1656	—	35,9	42,8	—	—
II	azêda/azêda	12	12	—	2782	—	—	39,5	42,8
III	doc.+az./doc.+az.	12	10	768	1152	25,7	—	28,7	
IV	doce/azêda	12	11	549	—	26,0	—	—	25,8
V	azêda/doce	12	11	—	2038	—	46,7	39,0	—
VI	doc.+az./doce	3	2	—	—	14,0	29,5	23,0	—
VII	doc.+az./azêda	11	7	—	—	15,4	—	23,6	30,3
VIII	azêda/doc.+az.	10	9	—	2201	—	—	42,3	52,7 *
IX	doce/doc.+az.	8	7	1445	—	40,2	43,0	—	21,8
X	doce/az./doce	2	1	345	—	29,0	27,0	22,0	—
XI	azêda/doc./az.	11	11	—	1557	33,2	—	30,6	38,2

(*) medido conjuntamente com a doce

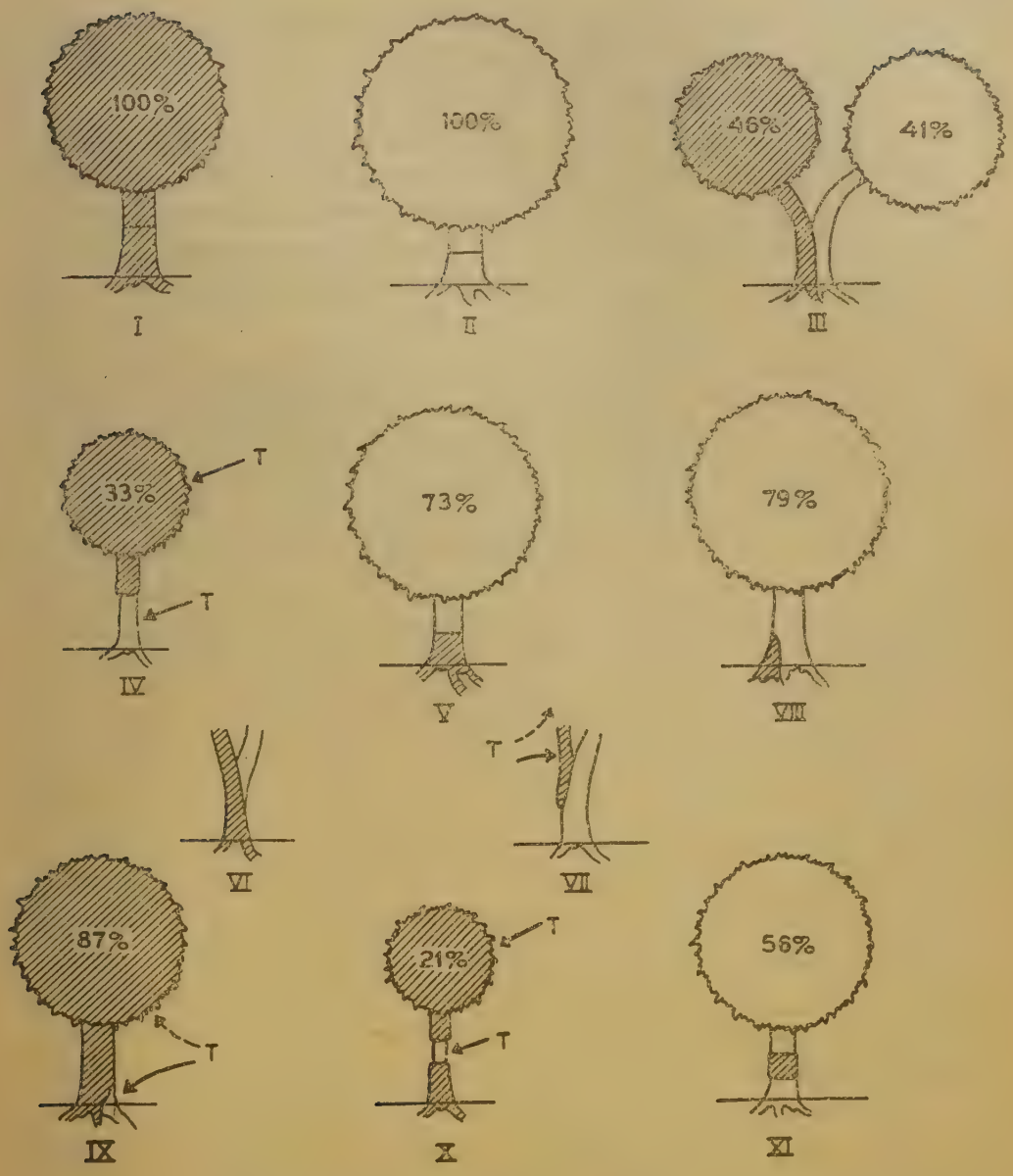


Fig. 1 — Representação esquematica do resultado da experiência de transmissão natural da "tristeza" a diversas combinações de enxertia entre laranjeira doce e laranjeira azêda. A laranjeira doce está representada com hachuras e a laranjeira azêda em branco. As percentagens indicadas nas copas exprimem a relação entre a media da cubagem da copa das plantas de cada grupo, conforme a tabela I e a media da cubagem das plantas do grupo I, para as laranjeiras doces e as do grupo II, para as laranjeiras azêdas. O diametro das copas é proporcional à raiz cubica das cubagens indicadas na tabela I. A largura dos troncos acima e abaixo das linhas de enxertia é proporcional aos diametros dos troncos indicados na mesma tabela.

Sintomas graves de tristeza foram observados na copa e no tronco das arvores indicadas por uma seta negra e a letra T. Sintomas mais benignos nos casos indicados com uma seta em traço pontilhado. A copa não foi medida para as plantas dos grupos VI e VII.

dos grupos III, VI, VII, VIII e IX, por ter morrido um dos membros da combinação. O número de árvores utilizadas no calculo das medias da tabela 1 está mencionado na 4.ª coluna.

Não foi calculada a cubagem das copas de laranjeira doce e laranjeira azêda dos grupos VI e VII, porquanto o intimo entrelaçamento dos ramos das duas plantas impedia a medição, mesmo grosseira, do diametro e da altura das copas. A medição foi um pouco mais facil no caso das copas duplas do grupo III e por êste motivo está indicada na tabela.

Na figura 1 estão representadas esquematicamente as árvores dos diversos grupos. As copas foram representadas com diametro proporcional à raiz cubica das cubagens indicadas nas colunas 5 e 6 da tabela 1. A largura do tronco acima e abaixo da linha de enxertia é aproximadamente proporcional aos diametros indicados nas colunas 7, 8, 9 e 10 da mesma tabela. As porcentagens indicadas na figura foram calculadas em relação às copas dos grupos I e II, para as copas de laranjeira doce e laranjeira azêda, respectivamente. Por exemplo, para o grupo IV, a cubagem média da copa que é de 549 dcm^3, representa 33% da cubagem média da copa do grupo I, que é 1656 dcm^3.

O teste do amido na casca do tronco da região de enxertia mostrou que em todos os casos a laranjeira azêda apresentava menor quantidade de amido do que a laranjeira doce. Este fato se verificou não sòmente nas plantas atacadas de tristeza, como também em tôdas as outras, de aspecto perfeitamente sadio. No caso de árvores atacadas de tristeza, entretanto, a laranjeira azêda mostrava-se praticamente desprovida de amido na região abaixo do enxerto, ao passa que, pela intensidade da coloração do amido pela solução iodo-iodurada, via-se que havia acumulação excessiva de amido na casca da laranjeira doce, justo acima do enxerto.

No "sandwich" de doce sôbre azêda sôbre doce (grupo X) notava-se o desaparecimento completo do amido na casca da parte intermediaria de laranjeira azêda, ao passo que a casca de laranjeira doce, imediatamente acima, revelava a presença do amido em quantidade superior à normal. Na casca de laranjeira doce imediatamente abaixo da laranjeira azêda, o amido achava-se em quantidade bem apreciavel embora menor que na parte acima da azêda.

No "sandwich" de azêda sôbre doce sôbre azêda (grupo XI) a parte intermediaria, de laranjeira doce, formava uma faixa escura bem nitida, devida à reação do amido pelo iodo, num contraste com a coloração muito mais clara da casca de laranjeira azêda, pobre em amido, portanto, acima e abaixo do segmento de laranjeira doce.

DISCUSSÃO

Pelos resultados que acabaram de ser expostos, vê-se que sòmente apresentaram sintomas muito marcados de tristeza os enxertos de laranjeira doce em laranjeira azêda do grupo IV. Também manifestavam sintomas as copas de laranjeira doce nos grupos VII (copa de doce e de azêda sôbre raíz de azêda) e IX (copa de doce sôbre raizes de doce e de azêda), ou sejam os enxertos em que a copa de doce achava-se por cima do tronco de azêda. Era também nessa situação que se achavam os "sandwiches" do grupo X, com doce sôbre azêda sôbre doce. Nêles os sintomas de tristeza se reduziam a um enfezamento geral da muda, sem o amarelecimento e outros sintomas de folhagem. Nos mesmos grupos, aos sintomas da copa de laranjeira doce, correspondia o fraco desenvolvimento do tronco e das raizes da laranjeira azêda, o que, acentuado pelo desenvolvimento excessivo do tronco de laranjeira doce acima da enxertia, resultava numa constrição marcada dessa zona, principalmente notavel no "sandwich" de doce sôbre azêda sôbre doce.

Nenhuma das outras combinações de enxertia apresentava sintomas de tristeza, quer na folhagem, quer no tronco ou nas raizes.

Esses resultados indicam, em primeiro lugar, que, nos casos de tristeza, há um aumento de formação de tecidos resultando num entumescimento e um aumento de amido revelado pelo teste do iodo, na casca de laranjeira doce acima da região de enxertia, dando-se exatamente o contrário na casca de laranjeira azêda por baixo da mesma região. SCHNEIDER, BITANCOURT e ROSSETTI (1947) mostraram que os vasos do floema do tronco na região de enxertia das plantas atacadas de tristeza acham-se em estado de colapso mais ou menos acentuado, principalmente na casca de laranjeira azêda, justamente por baixo da enxertia. É lícito concluir que êsse colapso deve ter tido por efeito um represamento, acima da zona de enxertia, dos hidratos de carbono e talvez também dos ácidos aminados, translocados da copa para as raizes, atravez do floema. Isso explica o excesso de amido e o aumento do volume dos tecidos, principalmente de celulose, na casca de laranjeira doce, justo acima da enxertia.

A presença de amido em quantidade apreciavel na casca de laranjeira doce e o diametro maior do tronco dessa espécie por baixo do segmento de laranjeira azêda no "sandwich" de doce sôbre azêda sôbre doce, indica, entretanto, que o colapso do floema da laranjeira azêda não impede completamente o translocamento dos hidratos de carbono da laranjeira doce da parte superior do "sandwich" para a laranjeira doce da parte inferior. Possivelmente os hidratos de carbono não são

translocados pelos vasos do floema e sim pela parede celular dos elementos dêsse tecido. De outro lado é evidente que não é a falta de hidrato de carbono que impede a casca de laranjeira de elaborar amido e celulose, pelo que se deve concluir que os sintomas de tristeza não são causados diretamente pelo colapso do floema e sim por uma perturbação do metabolismo dos hidratos de carbono nas celulas da laranjeira azêda, que as torna incapazes de sintetizar o amido e a celulose.

Em tôdas as árvores desta experiência a casca de laranjeira azêda apresentou uma reação muito mais fraca, ao teste do amido pelo iodo, do que a casca da laranjeira doce, o que ocorreu tanto nas plantas sem qualquer sintoma de tristeza como nas que estavam mais ou menos atacadas por essa doença. Como o virus da tristeza pode estar presente nos tecidos de laranjeira azêda de enxertos sem sintomas (BITANCOURT, em preparação), é possivel que, no momento em que foi aplicado o teste do amido, tôdas as árvores estivessem com o virus, tanto nos tecidos de laranjeira doce como nos de laranjeira azêda. Nêstes últimos o virus causaria a perturbação do metabolismo a que acima referí, mas sòmente quando êle se tivesse multiplicado em quantidade suficiente seria essa perturbação bastante para causar os sintomas de tristeza. A multiplicação do virus seria insuficiente na laranjeira azêda e mais pronunciada na laranjeira doce, sem entretanto causar perturbação nêste último hospedeiro. Sòmente uma copa bem desenvolvida de doce sôbre um porta-enxerto de laranjeira azêda permitiria uma acumulação suficiente de virus por translocação até a altura da enxertia, de modo a provocar nos tecidos de laranjeira azêda a perturbação do metabolismo que conduziria ao aparecimento dos sintomas.

Os resultados desta experiência estão em perfeito acôrdo com os das que TOXOPEUS realizou em Java com enxertias de laranjeira doce, laranjeira azêda e "cidra japonesa" (Japanese citron, TOXOPEUS, 1937). Esta última planta é provalvemente o limoeiro cravo (limeira Rangpur, WEBBER 1948 p. 101). Nas diversas combinações possíveis dessas três espécies citricas, sòmente as em que havia uma copa de laranjeira doce sôbre porta-enxerto de laranjeira azêda apresentavam os sintomas do que TOXOPEUS chamou de "falta de compatibilidade entre enxerto e porta-enxerto". Esta falta de compatibilidade é muito provavelmente a doença que designamos aqui como "tristeza". Nos 6 "sandwiches" possíveis, das três espécies, sòmente os de doce sôbre cidra sôbre azêda e de doce sôbre azêda sôbre cidra apresentaram sintomas. São êles justamente os que possuem uma copa de laranjeira doce direta ou indiretamente sôbre tronco de laranjeira azêda.

STUDIES ON THE "TRISTEZA" DISEASE OF CITRUS
II — SUSCEPTIBILITY OF THE DIFFERENT STOCK-SCION COMBINATIONS OF SWEET ORANGE AND SOUR ORANGE

Abstract

From November 1943 to February 1944 and in October 1944 approach-grafts of sweet orange and sour orange were prepared in several ways so as to obtain the following combinations: I, sweet orange on sweet orange; II, sour orange on sour orange; III, approach-graft of sweet and sour orange; IV, sweet on sour; V, sour on sweet; VI, crown of sweet and of sour on sweet orange roots; VII, crown of sweet and of sour on sour orange roots; VIII, sour orange on roots of sweet and of sour; IX, sweet orange on roots of sweet and of sour; X, "sandwich" of sweet on sour on sweet; XI, "sandwich" of sour on sweet on sour.

The trees were planted on September 18 to 29, 1945 and the first symptoms of "tristeza" were observed in some of the combinations in the beginning of 1947. Final readings were made in September 23, 1947. Symptoms were severe in all the trees of group IV and less marked in groups VII and IX. In all three groups the trunk and roots of sour orange were much less developed than in the controls (group II) or groups with no symptoms. The most interesting group was that of the "sandwich" sweet on sour on sweet (group X) in which the leaves had a normal dark green coloration but formed a very small, poorly developed crown. The sour orange section of the trunk was markedly constricted in relation to the sweet orange parts above and below the sour orange. No symptoms of tristeza were observed in the other groups.

This experiment shows that the symptoms of tristeza will show only when there is a crown of sweet orange foliage on top of a sour orange stock or section of stock. Apparently the virus will multiply in sufficient quantity only if there is enough foliage of sweet orange on top of sour orange but is lethal only to the sour orange tissues. The results with the sweet-sour-sweet "sandwich" (group X) show that the collapse of the phloem in the sour orange bark does not completely prevent the translocation of carbohydrates from the sweet orange top to the sweet orange roots below the sour orange section. Such a translocation possibly occurs through the cell walls rather than through the phloem vessels. It is concluded that the effect of the virus is to alter the metabolism of carbohydrates in the sour orange bark, preventing the synthesis of cellulose and starch in its cells.

BIBLIOGRAFIA

BITANCOURT, A. A. — 1941-1942 — A podridão das radicelas dos Citrus na Provincia de Corrientes. *Biológico* **6**: 285-288, 356-364; **7**: 62-69. ilus.

BITANCOURT, A. A. — 1944 — Um teste para a identificação precoce da tristeza dos Citrus. *Biológico* **10**: 169. ilus.

BITANCOURT, A. A. — em preparação — Estudos sôbre a "tristeza" dos Citrus. III. — Experiências sôbre a transmissão por enxertia. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo.

BITANCOURT, A. A., & A. J. RODRIGUES FILHO — 1948 — Estudos sôbre a "tristeza" dos Citrus. I. — Analise estatistica da distribuição das árvores doentes de um pomar de laranjeira doce enxertada sôbre laranjeira azêda. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo. **18**: 313-338. ilus.

SCHNEIDER, H., A. A. BITANCOURT & V. ROSSETTI — 1947 — Similarities in the pathological anatomy of quick-decline and tristeza diseased orange trees (Abstract.) *Phytopathology* **37**: 845-846.

TOXOPEUS, H. J. — 1937 — Stock-scion incompatibility in Citrus and its cause. *Jour. Pom. and Hort. Sc.* **14**: 360-364. ilus.

WEBBER, H. J. — 1948 — Rootstocks: their character and reactions *in* The Citrus Industry vol. II pp. 69-168. University of California Press, Berkeley and Los Angeles. ilus.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 11

Figs. *A-B* — Pomar experimental da experiência sôbre a susceptibilidade à tristeza de enxertos de laranjeira doce e laranjeira azeda; plantado em Outubro de 1945, fotografado em Novembro de 1947; *A*, à direita, enxertos de laranjeira doce sôbre laranjeira doce (grupo I), à esquerda, enxertos de laranjeira azeda sôbre laranjeira azeda (grupo II); *B*, à direita, enxertos de laranjeira doce sôbre laranjeira azeda (grupo IV), intensamente atacados de tristeza, à esquerda, enxertos de laranjeira azeda sôbre laranjeira doce (grupo V), sem sintomas.

Fot. Bitancourt e Rodrigues

Estampa 12

Figs. *A-D* — *A*, Enxerto de laranjeira doce sôbre laranjeira doce (grupo I); *B*, tronco da mesma arvore; *C*, enxerto de laranjeira azeda sôbre laranjeira azeda (grupo II); *D*, tronco da mesma arvore.

Fot. Bitancourt e Rodrigues

Estampa 13

Figs. *A-D* — *A*, Enxerto por aproximação de laranjeira doce e laranjeira azeda (grupo III), a laranjeira doce à direita; *B*, tronco das mesmas arvores; *C*, enxerto de laranjeira doce sôbre laranjeira azeda (grupo IV), fortemente atacado de tristeza; *D*, tronco da mesma arvore.

Fot. Bitancourt e Rodrigues

Estampa 14

Figs. *A-D* — *A*, Enxerto de laranjeira azeda sôbre laranjeira doce (grupo V); *B*, tronco da mesma arvore; *C*, enxerto de laranjeira doce e laranjeira azeda sôbre tronco de laranjeira doce (grupo VI); *D*, tronco da mesma arvore, a linha pontilhada branca separa a laranjeira azeda, à esquerda, da laranjeira doce.

Fot. Bitancourt e Rodrigues

Estampa 15

Figs. *A-D* — *A*, Enxerto de laranjeira doce e laranjeira azeda sôbre tronco de laranjeira azeda (grupo VII); *B*, tronco da mesma arvore, a linha pontilhada branca separa a laranjeira doce, à esquerda, da laranjeira azeda; *C*, enxerto de laranjeira azeda sôbre tronco de laranjeira azeda e laranjeira doce (grupo VIII); *D*, tronco da mesma arvore, a linha pontilhada branca separa a laranjeira doce, à direita, da laranjeira azeda.

Fot. Bitancourt e Rodrigues

Estampa 16

Figs. *A-D* — *A*, Enxerto de laranjeira doce sôbre tronco de laranjeira doce e laranjeira azeda (grupo IX); *B*, tronco da mesma arvore, a linha pontilhada branca separa a laranjeira doce, à direita, da laranjeira azeda; *C*, "sandwich" de laranjeira doce sôbre laranjeira azeda sôbre laranjeira doce (grupo X); *D*, tronco da mesma arvore, nota-se o estrangulamento da secção de tronco de laranjeira azeda entre a parte superior e inferior de laranjeira doce.

Fot. Bitancourt e Rodrigues

Estampa 17

Figs. *A-C* — *A*, "Sandwich" de laranjeira azeda sôbre laranjeira doce sôbre laranjeira azeda (grupo XI); *B*, tronco da mesma arvore, as duas linhas pontilhadas brancas delimitam a porção intermediária de laranjeira doce, entre a parte superior e a parte inferior, de laranjeira azeda; *C*, Arvore 11 do grupo VII (copa de laranjeira doce e laranjeira azeda, sôbre tronco de laranjeira azeda) fotografada em Junho de 1947. A folhagem da laranjeira doce, à esquerda, está rala e clorótica, a de laranjeira azeda, à direita, tem coloração verde escura normal.

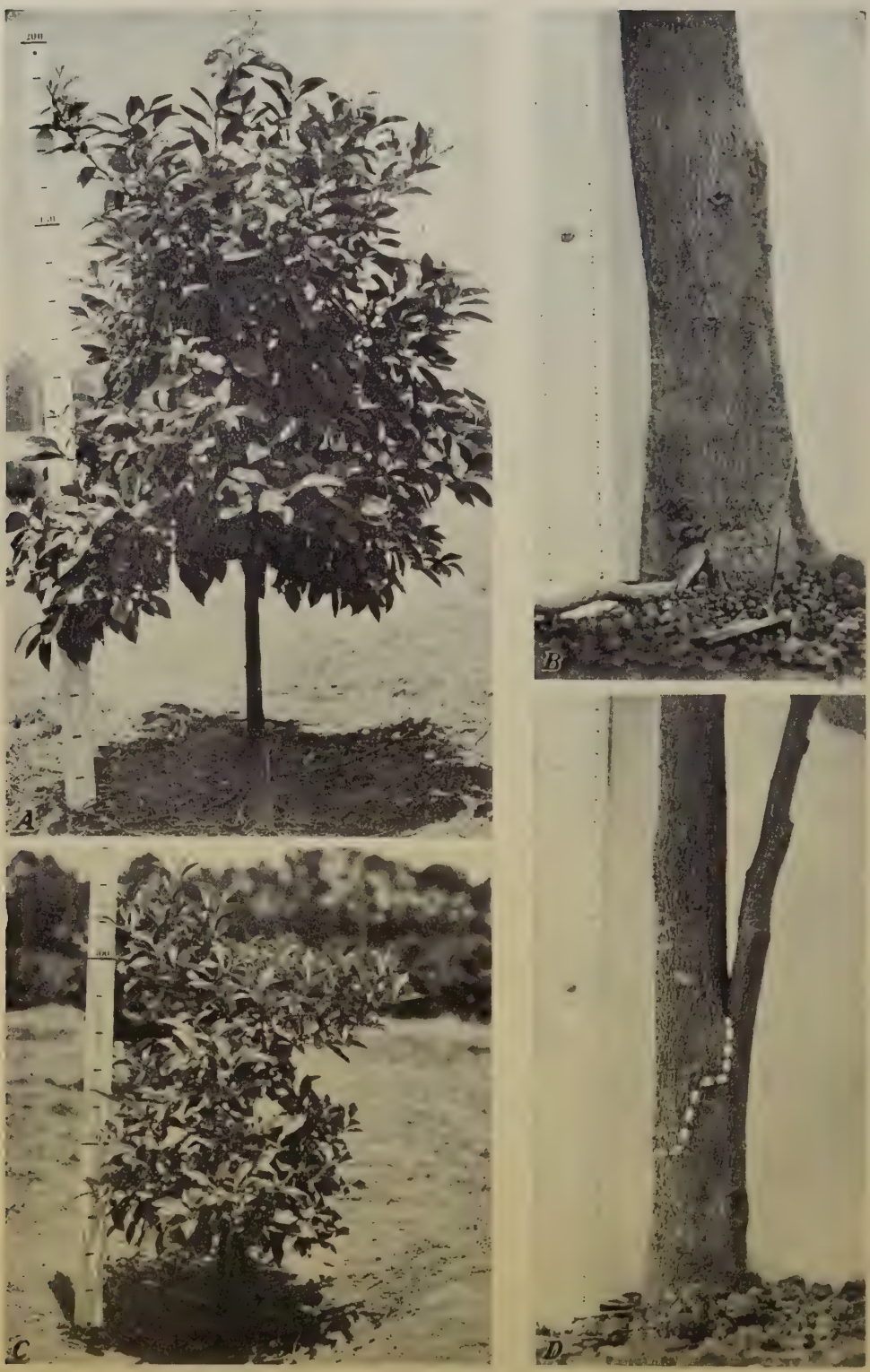
Fot. Bitancourt e Rodrigues *(A e B)* e
B. Mazza *(C)*

A

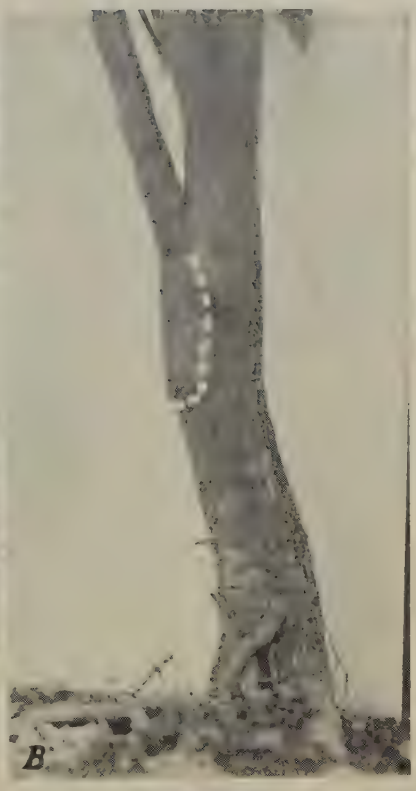
B

A
B
C
D

A
B
C
D


A
B
C
D

A


B

C

D

A
B
C
D

A

B

C

Vol. 20 — Art. 5 Março de 1951

PRODUÇÃO DE CALOR EM RELAÇÃO AO PESO E Á SUPERFICIE CORPORAL

V — METABOLISMO BASAL DE MULHERES PUBERES E IMPUBERES DE CLIMA QUENTE, BASEADO NO PESO METABOLICAMENTE ATIVO

POR

Paulo Enéas Galvão

Do Instituto Biológico de São Paulo

INTRODUÇÃO

Em trabalho anterior (2), verificamos não ser a produção de calor de cães da cidade de São Paulo proporcional á superficie cutânea, não se verificando, portanto, a lei da superficie de RUBNER e RICHET, uma das mais fundamentais do metabolismo energetico. Esses primeiros resultados puderam ser largamente confirmados pelo emprego de maior numero de cães, tendo-se feito variar as técnicas de modo a afastar causas de erro sistematico (3). De um total de 90 determinações feitas em 65 cães, de peso entre cerca de 3 e 30 quilogramos, com e sem anestesia, pudemos calcular a equação seguinte, que exprime a produção total de calor (C) do cão, em função do peso corporal (P):

$$C = 2{,}000\ P^{0{,}90}$$

Esta equação indica a proporcionalidade do metabolismo ao peso afetado de um expoente tal, que exclúe a proporção á superficie cutânea.

Ora, constitúem os cães precisamente os animais de escolha para o estudo da lei da superficie, porque nessa especie se apresentam as maiores variações individuais do peso e da superficie no estado adulto. Por outro lado, foi justamente em cães que RUBNER estabeleceu a lei, e ainda recentemente BRODY, calculando os resultados das experiências fidedignas de RUBNER, de LUSK e DU BOIS, de KUNDE e de STEINHAUS, concluiu que a produção de calor dos cães é proporcional a $P^{0,6}$, o que representa proximamente a superficie cutânea desses animais.

Atribuimos a divergencia entre os resultados por nós encontrados e os obtidos pelos autores citados ás diferentes condições climaticas em que vivem os animais. Assim os cães de clima quente teriam seu metabolismo proporcional ao peso de seu tecido metabolicamente ativo (expresso por $P^{0,90}$), ao passo que nos cães de clima frio (investigados pelos autores europeus e norte-americanos), o metabolismo seria proporcional á superficie cutânea. Este ultimo fato seria devido

a que a produção de calor tende a compensar a maior perda por essa superficie (causada por uma maior diferença de temperatura entre a pele e o meio ambiente) tornando-se portanto proporcional à superficie cutânea. Em outras palavras: nos paises quentes a produção condicionaria a perda de calor, enquanto nos paises frios a perda é que condicionaria a produção.

Não cabe aqui senão lembrar a tão velha, debatida e apaixonante questão de interpretação da lei da superficie. Alguns autores atribuem-lhe uma significação térmica, ligando de modo causal a perda e a produção de calor, ao passo que outros consideram-na como uma simples coincidência, admitindo que o metabolismo seja na realidade proporcional a um outro fator qualquer que variaria como $P^{0,66}$, tal como quantidade de sangue, secção transversa da traqueia ou da aorta, peso dos orgãos, peso metabolico, superficies internas, etc.

Ora, o fato de termos verificado que a lei deixa de ser válida nas nossas condições climaticas, nos levou a admitir que se trata, na realidade, de uma lei térmica causal e que por isso mesmo só pode vigorar nos paises frios. De fato, se se tratasse de uma proporcionalidade a qualquer dos fatores invocados pelos defensores da interpretação pela coincidencia, não haveria motivo para que a lei não se aplicasse tambem nos climas quentes.

Como era natural, essas pesquisas nos levaram a investigar se a lei da superficie não seria tambem inaplicavel ao homem de clima quente. Aqui, ao lado do interesse puramente cientifico, aparece o interesse pratico muito grande, pois correntemente nestes climas se mede o metabolismo basal em calorias por metro quadrado, supondo-se assim válida a lei em questão.

Para isso investigamos brasileiros habitantes de S. Paulo, sadios, adultos, brancos, de sexo masculino, que não exerciam habitualmente trabalho muscular. Como nos preocupasse o metabolismo em função do peso metabolicamente ativo, foram esses pacientes classificados (segundo uma relação, adiante definida, entre o peso corporal e altura) em magros, bem proporcionados e gordos, sendo cada um desses grupos constituido de 50 individuos de pesos os mais variados possiveis.

Para os individuos magros encontramos (4) o numero de calorias totais por hora (C) em função do peso corporal (P) expresso pela seguinte equação:

$$C = 2{,}038 \quad P^{0,83}.$$

Para os individuos bem proporcionados (5) a equação achada foi:

$$C = 2{,}334 \quad P^{0,78}.$$

e para os gordos (6)

$$C = 3{,}158 \quad P^{0,71}.$$

As expressões $P^{0,83}$, $P^{0,78}$ e $P^{0,71}$ a que são proporcionais a produção de calor dos diferentes grupos de individuos, representam, a nosso ver, o peso metabolicamente ativo de cada grupo (1). De fato, a sua ordem de grandeza relativa se adapta muito bem a essa concepção e se afasta da expressão da superficie corporal.

Por isso propusemos fosse o metabolismo basal nos paises quentes definido, não como a quantidade de calor por metro quadrado e por hora, mas como a quantidade de calor produzida por quilograma de peso metabolicamente ativo e por hora. Os padrões que propusemos, derivados das equações acima referidas, seriam:

Para homens magros:

$$\text{Metabolismo basal} = \frac{\text{Calorias por hora}}{P^{0,83}} = 2{,}038\ C$$

($\pm$ 12% em 90% dos casos e $\pm$ 18,5% em 99% dos casos).

Para homens bem proporcionados:

$$\text{Metabolismo basal} = \frac{\text{Calorias por hora}}{P^{0,71}} = 2{,}334\ C$$

($\pm$ 10% em 90% dos casos e $\pm$ 16% em 99% dos casos).

Para homens gordos:

$$\text{Metabolismo basal} = \frac{\text{Calorias por hora}}{P^{0,78}} = 3{,}158\ C$$

($\pm$ 14% em 90% dos casos e $\pm$ 22% em 99% dos casos).

Como se vê, a quantidade de calor produzida por unidade de peso metabolicamente ativo aumenta à medida que o individuo apresenta maior quantidade de peso inativo, o que se pode explicar pela maior atividade do tecido metabolico (em particular dos musculos) para sustentar e transportar habitualmente um maior peso de tecido inerte (1). As variações maximas observadas são perfeitamente comparaveis às verificadas pelos experimentadores norte-americanos. Assim, por exemplo, BOOTHBY, BERKSON e PLUMMER (1), da Mayo Clinic, verificaram que as variações normais, em torno do padrão de BOOTHBY e SANDIFORD, são de 10%, quando se consideram 68% dos casos, atingindo 15% e 18% quando se consideram respectivamente 90% e 95% dos casos nomais.

Com o fim de confrontar os nossos dados com os que foram obtidos em individuos comparaveis aos nossos, mas vivendo em clima frio, lançamos mão dos classicos dados publicados por HARRIS e BENEDICT (que serviram para estabelecer os seus padrões e em grande parte os de AUB-DU BOIS e os de outros autores), dos dados de BENEDICT e ainda dos que BOOTHBY e SANDIFORD publicaram com suficiente detalhe. Classificados os homens investigados pelos autores norte-ameri-

(1) Para determinar o peso metabolicamente ativo ver o apendice 2.
(2) Os padrões propostos se acham reunidos no apendice 1.

canos, de acordo com o mesmo critério que empregamos, calculamos as seguintes equações: $C = 3{,}858\ P^{0{,}69}$ (para homens magros), $C = 4{,}088\ P^{0{,}67}$ (para os bem proporcionados) e $C = 3{,}787\ P^{0{,}67}$ (para homens gordos). Ora, $P^{0{,}69}$ e $P^{0{,}67}$ representam muito exatamente a superficie dos individuos, não diferindo senão de uns poucos por cento da superficie corporal calculada pela formula de DU BOIS, levando-se em conta que, para calcular a superficie em metros quadrados, a partir do peso em quilos, é preciso dividir o resultado por 10. Como se vê, o numero de calorias produzido por metro quadrado-hora é muito proximo para as três classes de individuos, mostrando-se assim, nos climas frios, perfeitamente válida a lei da superficie.

Assim podemos concluir que, tanto para o cão como para o homem adulto, a lei da superficie, bem aplicavel nos climas frios, não é válida no nosso clima.

Explicamos as diferentes proporcionalidades da produção total de calor conforme o clima, admitindo:

a) que o metabolismo nos climas quentes resulta sòmente da produção minima de calor pelo tecido metabolicamente ativo e por isso é proporcional ao peso desse tecido;

b) que o metabolismo nos climas frios é igual ao minimo de calor produzido pelo tecido metabolicamente ativo (como nos climas quentes), mais uma certa quantidade produzida por esse mesmo tecido para compensar maior perda de calor. Esta segunda parcela, a que chamamos "efeito de superficie", é que tornaria a produção total de calor nos climas frios proporcional à superficie cutânea. Neste caso o efeito da superficie deve ser tanto maior quanto maior fôr a razão entre a superficie e o peso metabolico do individuo.

Os detalhes desta teoria, seu acôrdo com fatos observados, bem como sua aplicação à importante questão da baixa do metabolismo nos paises quentes, descoberta por A. OZORIO DE ALMEIDA, foram discutidos em trabalho anterior (6).

No presente trabalho se mostra que o metabolismo minimo de individuos do sexo feminino de clima quente é proporcional ao peso corporal elevado aos mesmos expoentes que os encontrados para os homens do mesmo clima e de tipo morfologico correspondente. Assim sendo, propomos tomar tambem para as mulheres, como padrão de metabolismo basal, a quantidade minima de calor produzida por hora e por quilo de peso metabolicamente ativo, e não por metro quadrado de superficie.

PARTE EXPERIMENTAL

Pacientes — Os estudos foram feitos em 36 pessôas do sexo feminino, púberes, de 11 a 48 anos, de raça branca, brasileiras, residentes em S. Paulo, de descendencia nacional ou estrangeira, de vida normalmente ativa, mas não praticando habitualmente trabalho muscular pesado. Essas pacientes foram classificadas em magras, bem proporcionadas e gordas, sendo cada grupo constituido por 12 individuos.

O critério para a classificação foi o mesmo usado anteriormente para o homem: *Magras* eram consideradas as pacientes cujo peso em quilos atingia no maximo o numero de centimetros de altura acima de um metro, descontado desse numero 10%. *Bem proporcionadas,* aquelas cujo peso em quilos era no minimo igual ao numero de centimetros de altura acima de um metro, descontado de 9,9%, e no maximo igual ao mesmo numero acrescido de 5%. *Gordas,* aquelas cujo peso em quilos era no minimo igual ao numero de centimetros de altura acima de um metro, acrescido de 5,1% no maximo ao mesmo numero acrescido de 30%.

As pacientes púberes foram submetidas às determinações de metabolismo nos intervalos do periodo mestrual.

Além dessas pacientes foram tambem investigadas 12 meninas impúberes do tipo magro.

Todas as pessôas foram submetidas ao exame clínico para comprovação de estado de saúde normal.

Clima — A cidade de São Paulo está situada exatamente sob o tropico do Capricornio, a uma altitude de cerca de 760 metros sobre o nivel do mar. A temperatura média anual é proximamente de 18°C, a temperatura média do mês mais frio, de 15°C, e a do mês mais quente, de 22°C, aproximadamente.

Técnica da determinação do metabolismo minimo — A técnica empregada foi exatamente a mesma que empregamos anteriormente para o homem. Na vespera da determinação as pacientes jantavam moderamente, excluindo da refeição carne, peixe, leite e ovos. Na manhã seguinte, após 12-13 horas de jejum, chegavam ao laboratório e se deitavam, vestidas, numa cama confortavel, colocada em quarto bem isolado, cuja temperatura era mantida entre 20 e 24°C. Permaneciam em completo repouso e relaxamento muscular por meia hora, usando ou não, à vontade, de cobertas, de modo a não sentir frio ou calor. Decorrido esse tempo, eralhes fixada sobre a face uma meia mascara (com bordos de borracha insuflados de ar) que era posta em conexão com um sistema de val-

vulas de Chauveau-Tissot. O ar inspirado era o ar atmosferico exterior e o ar expirado podia á vontade ser expelido para o quarto ou recolhido num gasometro de Tissot bem compensado e controlado. O ajustamento da mascara e todas as conexões eram verificadas para evitar qualquer evasão de ar, mesmo quando o tubo de expiração era fechado por algum tempo de modo a aumentar consideravelmente a pressão no interior da mascara. Esta manobra era sempre feita antes e depois da determinação. Esperava-se ainda 5 a 10 minutos para que a paciente se acostumasse com a mascara, aproveitando-se para lavrar o espaço morto do aparelho com o ar expirado. Começava-se então a recolher no gasometro o ar expirado durante exatamente seis minutos. Liam-se o termometro, o volume do ar expirado recolhido e a pressão barometrica, colhendo-se em seguida uma amostra de ar para a analise. Terminada essa primeira determinação procedia-se a uma segunda, feita exatamente do mesmo modo.

Como as pacientes eram préviamente instruidas, permaneciam perfeitamente á vontade, sem sentir medo, falta de conforto ou dificuldade de respiração, mantendo-se em perfeito repouso durante todo o tempo que duravam as determinações, i. é, cerca de uma hora.

Para evitar qualquer causa de erro sistematico na aparelhagem, usavam-se durante as determinações, indiferentemente, duas séries de mascaras, valvulas e gasometros.

As amostras de ar eram analisadas em dois aparelhos de Haldane, calibrados por um grande numero de analises de ar atmosferico, repetidas durante as experiencias, não excedendo de 0,03% o erro maximo das porcentagens somadas de oxigenio e de gás carbonico, em relação á porcentagem teórica. As calorias totais foram calculadas a partir do volume do oxigenio consumido (reduzido a 0° C, a 760 mmHg e à secura), usando-se 4,8 como valor térmico.

O peso e a altura das pacientes eram medidos logo após as determinações, descontando-se o peso das roupas. Para o calculo da superficie cutânea empregamos o grafico de Du Bois.

A média dos afastamentos entre as duas determinações em cada uma das 48 pacientes foi de 4,2%, sendo aproveitada apenas a determinação mais baixa.

RESULTADOS

Com os dados obtidos (resumidos na tabela I) procuramos verificar se, nas pacientes estudadas, o metabolismo minimo era proporcional ao peso elevado aos mesmos expoentes que encontráramos anteriormente para os grupos correspondentes de homens.

Para isso, por meio da equação $\log a = \log C - b \log P$ (deduzida da equação geral $C = a P^b$), foi calculado o logaritmo da cons-

TABELA I

Metabolismo de pacientes do sexo feminino

N.o	INICIAES	Idade (Anos)	PESO (K.)	Altura (M.)	Calorias totais hora	Cal-hora / Peso m. at.	PROFISSÃO
			Púberes Magras				
151	A.G.C.	15	41,8	1,51	44,44	2,007	Estudante
152	I.S.	14	44,9	1,57	49,50	2,104	Estudante
153	A.P.	34	45,2	1,61	46,92	1,984	Bibliotecaria
154	J.F.	38	47,2	1,55	42,26	1,724	Aux. Laboratorio
155	M.L.S.	23	47,7	1,65	53,28	2,154	Aux. Escrituraria
156	L.F.M.	23	48,5	1,56	53,42	2,131	Comerciária
157	M.L.S.	14	48,7	1,65	52,11	2,071	Estudante
158	G.C.	18	49,0	1,63	49,05	1,940	Comerciária
159	I.L.	14	51,4	1,58	57,63	2,190	Estudante
160	A.N.S.	14	51,6	1,64	49,83	1,888	Estudante
161	N.G.	27	53,8	1,60	57,98	2,122	Func. Pública
162	D.F.M.	17	54,6	1,64	52,33	1,982	Estudante
			Púberes bem proporcionadas				
163	S.A.	23	45,6	1,46	46,46	2,362	Química
164	H.M.	15	54,0	1,52	49,84	2,220	Pren. Domésticas
165	B.G.	17	54,2	1,52	45,70	2,066	Estudante
166	V.R.	31	54,5	1,52	52,75	2,332	Assist. Laborat.
167	L.P.B.	17	54,8	1,55	45,17	1,989	Estudante
168	I.C.S.	18	55,0	1,60	55,26	2,426	Óptica
169	M.C.P.	23	56,8	1,61	51,71	2,213	Biologista
170	A.R.G.	13	57,0	1,57	53,15	2,269	Estudante
171	M.C.S.	18	58,4	1,60	49,64	2,079	Aux. Laboratorio
172	O.B.H.	29	60,0	1,66	50,86	2,076	Química
173	C.A.	40	65,2	1,66	49,53	1,904	Escrituraria
174	D.C.O.	16	66,6	1,64	57,31	2,122	Estudante
			Púberes Gordas				
175	E.R.G.	34	58,0	1,53	49,97	2,796	Pren. Domésticas
176	M.J.L.	37	59,5	1,53	52,37	2,877	Bibliotecária
177	I.P.	18	61,0	1,51	52,82	2,852	Pren. Domésticas
178	L.P.P.	13	61,6	1,51	58,28	3,127	Estudante
179	E.C.G.	20	65,2	1,60	54,42	2,802	Pren. Domésticas
180	R.S.	15	65,2	1,60	65,52	3,219	Estudante
181	E.G.	12	66,5	1,55	61,58	3,127	Estudante
182	L.H.P.A.	37	67,4	1,61	52,88	2,660	Química
183	R.M.	20	73,0	1,58	60,74	2,888	Pren. Domésticas
184	P.P.E.C.	24	73,5	1,57	63,86	3,042	Pren. Domésticas
185	E.M.S.A.	33	74,4	1,70	64,14	3,008	Educ. Sanitária
186	R.G.	48	77,3	1,63	59,30	2,707	Técn. Laboratorio
			Impúberes Magras				
187	N.G.F.	12	26,4	1,37	39,53	2,613	Estudante
188	U.A.A.	12	29,0	1,44	49,63	3,034	Estudante
189	D.G.	12	29,0	1,35	43,61	2,666	Estudante
190	M.C.F.	12	30,0	1,40	46,47	2,763	Estudante
191	L.R.G.	14	30,5	1,37	44,76	2,621	Estudante
192	H.M.S.	13	32,2	1,42	42,40	2,377	Estudante
193	H.P.B.	13	32,5	1,52	48,76	2,712	Estudante
194	S.P.	12	33,2	1,41	44,70	2,443	Estudante
195	H.B.B.	12	33,4	1,46	44,00	2,393	Estudante
196	A.G.C.	14	37,7	1,49	55,30	2,719	Estudante
197	M.C.	12	41,7	1,51	53,02	2,398	Estudante
198	I.M.G.	15	51,5	1,58	67,48	2,561	Pren. Domésticas

tante (a) em função da média dos logaritmos da produção total de calor por hora ($\overline{C}$) e da média dos logaritmos dos pesos em quilos ($\overline{P}$) multiplicada pelos expoentes (b) 0,83; 0,78 e 0,71, respectivamente para os casos de mulheres magras, bem proporcionadas e gordas. Pela determinação do antilogaritmo encontramos o valor da constante (a).

Foram assim estabelecidas as seguintes equações:

$C = 2{,}012\ P^{0.83}$ para as mulheres magras púberes.
$C = 2{,}168\ P^{0.78}$ para as mulheres bem proporcionadas púberes.
$C = 2{,}919\ P^{0.71}$ para as mulheres gordas púberes.
$C = 2{,}601\ P^{0.83}$ para as mulheres magras impúberes.

Essas equações se mostraram muito satisfatórias, pois permitem calcular, de maneira notavelmente aproximada, o metabolismo minimo em todos os grupos de mulheres. Com efeito, as diferenças entre o calculado e o encontrado experimentalmente não são significativas, como mostram os baixos valores seguintes obtidos pelo emprego do test de "t" em cada um dos grupos, respectivamente: 0,02; 0,14; 0,16 e 0,09.

Partindo de equações acima estabelecidas, propomos que para as mulheres de clima quente, como o fizemos anteriormente para os homens do mesmo clima, se defina o metabolismo basal como o numero de calorias totais minimas produzidas por hora (metabolismo minimo) dividido pelo peso metabolicamente ativo, que a nosso ver é o que exprime P^b (1). O metabolismo basal se definiria nesse caso como a produção minima de calor por unidade de peso metabolicamente ativo, abandonando-se, nos paises quentes, a referencia á unidade de superficie cutânea, como racionalmente é feita nos climas frios onde é válida a lei da superficie.

Os padrões de metabolismo basal para mulheres de clima quente, baseados nas nossas determinações, com as médias das variações maximas que verificámos, têm os valores seguintes:

Para mulheres púberes magras: $\dfrac{\text{Calorias por hora}}{P^{0.83}} = 2{,}012 \pm 11{,}5\%$

Para mulheres bem proporcionadas: $\dfrac{\text{Calorias por hora}}{P^{0.78}} = 2{,}168 \pm 12{,}0\%$.

Para mulheres púberes gordas: $\dfrac{\text{Calorias por hora}}{P^{0.71}} = 2{,}919 \pm 8{,}2\%$.

Para impúberes magras: $\dfrac{\text{Calorias por hora}}{P^{0.83}} = 2{,}601 \pm 12{,}5\%$.

(1) Para determinar o peso metabolicamente ativo ver apendice 2.

Para o caso das mulheres púberes os valores desses padrões são um pouco mais baixos que os que estabelecemos para os homens adultos de constituição corporal correspondente, sendo a diferença respectiva de 1,2%, 7,1% e 7,6% nos três grupos de individuos (1).

Um fato que merece particular atenção, porque contrasta com os dados classicos, é o de não termos verificado nas mulheres púberes influência da idade no metabolismo basal, apesar de termos trabalhado com pacientes de 12 a 48 anos.

Ao contrário, encontramos uma influência decisiva da puberdade. Com efeito, o metabolismo basal das impúberes magras (as únicas que estudamos) mostrou-se muito mais elevado do que o das púberes magras (em média de 29,6%), mesmo no caso em que a impúbere tem mais idade do que a púbere. Este último fato está bem de acordo com as verificações de SHOCK (7), que encontrou uma quéda rápida da produção de calor por metro quadrado de superficie, associada mais de perto á menarca do que à idade.

Esses fatos dão a impressão nitida de que, pelo menos nos paises quentes (e faremos notar que SHOCK trabalhou no Sul dos Estados Unidos), o metabolismo se altera de maneira critica com a puberdade, fixando-se então, em definitiva, num nivel mais baixo.

*
* *

Muito gratos ficamos ao DR. ANDERSON C. DE ANDRADE, que se encarregou do tratamento estatistico dos dados experimentais aqui apresentados. Agradecemos tambem ao DR. C. A. SALVATORE o exame de saúde das pacientes, e aos Snrs. J. P. FORSTER e E. PANSARDI o auxilio prestado nas determinações.

HUMAN HEAT PRODUCTION IN RELATION TO BODY WEIGHT AND BODY SURFACE. V — BASAL METABOLISM OF SEXUALLY MATURE AND IMMATURE HUMAN FEMALES OF WARM CLIMATES, BASED ON THE METABOLICALLY ACTIVE WEIGHT

Abstract

In previous papers we have reported that the minimum metabolism per hour (C) of inhabitants of São Paulo can be expressed as a function of the body weight in kilograms (W) by the following equations: $C = 2.000\ W^{0,90}$ *for dogs (2,3),* $C = 2.038\ W^{0,83}$ *for lean men (4),* $C = 2.334\ W^{0,78}$ *for well proportioned men (5) and* $C = 3.158\ W^{0,71}$ *for fat men (6). These equations show that the metabolism of our subjects is proportional to the body weight to powers*

(1) Os padrões propostos para homens e mulheres se acham reunidos no apendice 1.

(W^b) which do not express their body surface, but can be considered to express their metabolically active weight. On the other hand, by calculating classical American data, we have found that the metabolism of men of the same morphological types as those of our subjects, but living in cold climates, is proportional to body surface. Founded on the different rates of heat loss in warm and in cold climates we have given a general interpretation of these different proportionalities. Based on our equations we have also proposed standards of basal metabolism, to be used in warm climates, expressing the minimal heat production per kilogram of metabolically active weight, instead of per square meter of body surface.

In the present paper we report the determinations of minimum heat production of 48 human females of São Paulo (table 1). Their metabolism is shown to be proportional to the weights to the same powers found for our men of the same morphological type, being very adequately represented by the following equations: $C = 2.102\ W^{0,83}$ for mature lean females, $C = 2.168\ W^{0,78}$ for mature well proportioned females, $C = 2.919\ W^{0,71}$ for mature fat females and $C = 2.601\ W^{0,83}$ for immature lean females.

The standards of basal metabolism for warm climates we now propose for females are on the same lines of those we proposed for men (appendix 1). The normal variations found experimentally did not exceed 12,5 per cent.

The standard values for sexually mature females are only a little lower than those for adult men.

A decisive influence of puberty, but not of age, was observed. In fact, the sexually mature females showed a very uniform metabolism per kilo of metabolically active tissue, independently of a wide variation of the age (12 to 48 years). On the other hand, the metabolism of sexually immature females was found to be much higher (average 29,6 per cent) than that of the mature ones, even when the former were older than the latter. We have the clear impression that, at least in warm climates, the metabolim critically falls at puberty and then remains definitively at a lower constant level.

BIBLIOGRAFIA

1 — Boothby, W. M., J. Berkson e W. A. Plummer — 1937 — *apud* Houssay, B. A. e col. Fisiologia Humana, 1950, 2.ª edição, pag. 489. El Ateneo. Buenos Aires.

2 — Galvão, P. E. — 1942 — Sobre a aplicação intraespecifica da lei da superficie nas regiões tropicaes. Tese de concurso para Professor Catedratico de Fisiologia da Escola Paulista de Medicina. Tipografia Brasil. São Paulo.

3 — Galvão, P. E. — 1947 — Heat production in relation to body surface. Inapplicability of the surface law on dogs of the tropical zone. *Amer. Jour. Physiol.* 148: 478-489.

4 — Galvão, P. E. — 1948 — Human heat production in relation to body weight and body surface. I. Inapplicability of the surface law on lean men of the tropical zone. *J. Applied Physiol.* 1: 385-394.

5 — Galvão, P. E. — 1948 — Human heat production in relation to body weight and body surface. II. Inapplicability of the surface law on well proportioned men of the tropical zone. *J. Applied Physiol.* 1: 395-401.

6 — Galvão, P. E. — 1950 — Human heat production in relation to body weight and body surface. III. Inapplicability of surface law on fat men of the tropical zone. IV. General interpretation of climatic influence on metabolism. *J. Applied Physiol.* 3: 21-28.

7 — Shock, N. W. — 1943 — The effect of menarche on basal physiological functions in girls. *Amer. Journ. Physiol.* 139: 288-291.

APENDICE 1

Padrões de Metabolismo Basal nos Climas Quentes Baseados no Peso Metabolicamente Ativo (x)

Tipo	Metabolismo Basal	Individuos	Padrões	Variações Maximas Normais (xx)	
				em 99% dos casos	em 90% dos casos
Magro	$\frac{\text{Cal. p. hora}}{P^{0,83}}$	Homem adulto . . . Mulher púbere . . .	2,038 2,012	± 18,5%	± 12,0%
Bem Proporcionado . .	$\frac{\text{Cal. p. hora}}{P^{0,78}}$	Homem adulto . . . Mulher púbere . . .	2,334 2,168	± 16,0%	± 10,0%
Gordo	$\frac{\text{Cal. p. hora}}{P^{0,71}}$	Homem adulto . . . Mulher púbere . . .	3,158 2,919	± 22,0%	± 14,0%
Magro	$\frac{\text{Cal. p. hora}}{P^{0,83}}$	Mulher impúbere . . .	2,601		

(x) Na tabela do apendice 2 se encontra o peso metabolicamente ativo correspondente ao peso corporal para cada um dos tipos de individuos.

(xx) Essas variações normais, obtidas por calculo estatístico, são perfeitamente comparaveis ás encontradas pelos autores americanos para os seus padrões, entre outros por Boothby, Berkson e Plummer (1).

APENDICE 2

Tabela do peso metabolicamente ativo segundo o peso corporal e o tipo do ou da paciente

Peso Corporal (P) (K)	Peso Met. Ativo de Individuos Magros $P^{0,83}$ (+) (K)	Peso Met. Ativo de Individuos Bem Proporcionados $P^{0,78}$ (+) (K)	Peso Met. Ativo de Individuos Gordos $P^{0,71}$ (+) (K)	Peso Corporal (P) (K)	Peso Met. Ativo de Individuos Magros $P^{0,83}$ (+) (K)	Peso Met. Ativo de Individuos Bem Proporcionados $P^{0,78}$ (+) (K)	Peso Met. Ativo de Individuos Gordos $P^{0,71}$ (+) (K)
20,0	12,02	10,35	8,39	40,0	21,37	17,77	13,73
20,5	12,27	10,55	8,53	40,5	21,59	17,94	13,85
21,0	12,52	10,75	8,68	41,0	21,81	18,11	13,97
21,5	12,76	10,95	8,83	41,5	22,02	18,29	14,09
22,0	13,01	11,15	8,97	42,0	22,25	18,46	14,21
22,5	13,26	11,34	9,12	42,5	22,47	18,63	14,33
23,0	13,50	11,54	9,26	43,0	22,69	18,80	14,45
23,5	13,74	11,74	9,40	43,5	22,90	18,96	14,57
24,0	13,98	11,99	9,54	44,0	23,13	19,14	14,68
24,5	14,22	12,12	9,68	44,5	23,34	19,30	14,80
25,0	14,47	12,32	9,82	45,0	23,56	19,48	14,92
25,5	14,71	12,51	9,96	45,5	23,78	19,65	15,04
26,0	14,95	12,70	10,11	46,0	23,99	19,81	15,16
26,5	15,18	12,89	10,25	46,5	24,21	19,98	15,27
27,0	15,41	13,08	10,39	47,0	24,43	20,15	15,39
27,5	15,65	13,26	10,51	47,5	24,64	20,32	15,51
28,0	15,89	13,45	10,65	48,0	24,86	20,48	15,62
28,5	16,12	13,63	10,78	48,5	25,07	20,65	15,73
29,0	16,36	13,83	10,92	49,0	25,29	20,82	15,85
29,5	16,59	14,01	11,05	49,5	25,50	20,98	15,97
30,0	16,82	14,29	11,19	50,0	25,71	21,15	16,08
30,5	17,06	14,38	11,32	50,5	25,92	21,31	16,20
31,0	17,29	14,56	11,45	51,0	26,14	21,47	16,31
31,5	17,52	14,75	11,58	51,5	26,35	21,64	16,42
32,0	17,75	14,93	11,72	52,0	26,57	21,80	16,54
32,5	17,98	15,11	11,84	52,5	26,78	21,97	16,65
33,0	18,21	15,29	11,97	53,0	26,99	22,13	16,76
33,5	18,44	15,47	12,10	53,5	27,20	22,29	16,87
34,0	18,67	15,65	12,23	54,0	27,41	22,45	16,96
34,5	18,90	15,93	12,35	54,5	27,62	22,62	17,09
35,0	19,13	16,01	12,48	55,0	27,83	22,78	17,21
35,5	19,35	16,19	12,61	55,5	28,04	22,94	17,32
36,0	19,58	16,36	12,73	56,0	28,24	23,10	17,43
36,5	19,80	16,54	12,86	56,5	28,46	23,26	17,53
37,0	20,03	16,80	12,99	57,0	28,67	23,42	17,65
37,5	20,25	16,90	13,11	57,5	28,87	23,58	17,76
38,0	20,47	17,07	13,23	58,0	29,09	23,74	17,87
38,5	20,70	17,24	13,35	58,5	29,29	23,90	17,98
39,0	20,92	17,41	13,48	59,0	29,50	24,06	18,09
39,5	21,15	17,60	13,60	59,5	29,70	24,22	18,19

(+) Calculado determinando-se o antilogaritmo do produto do expoente pelo logaritmo do peso.

APENDICE 2

(Continuação)

Peso Corporal (P) (K)	Peso Met. Ativo de Individuos Magros P0,83 (+) (K)	Peso Met. Ativo de Individuos Bem Proporcionados P0,78 (+) (K)	Peso Met. Ativo de Individuos Gordos P0,71 (+) (K)	Peso Corporal (P) (K)	Peso Met. Ativo de Individuos Magros P0,83 (+) (K)	Peso Met. Ativo de Individuos Bem Proporcionados P0,78 (+) (K)	Peso Met. Ativo de Individuos Gordos P0,71 (+) (K)
60,0	29,91	24,37	18,30	80,0	37,98	30,51	22,45
60,5	30,12	24,54	18,41	80,5	38,18	30,66	22,55
61,0	30,33	24,69	18,52	81,0	38,37	30,80	22,65
61,5	30,53	24,85	18,63	81,5	38,57	30,95	22,75
62,0	30,74	25,00	18,73	82,0	38,77	31,10	22,85
62,5	30,94	25,17	18,84	82,5	38,96	31,25	22,95
63,0	31,15	25,32	18,95	83,0	39,16	31,40	23,05
63,5	31,35	25,48	19,05	83,5	39,35	31,54	23,14
64,0	31,56	25,63	19,16	84,0	39,55	31,69	23,24
64,5	31,76	25,79	19,27	84,5	39,75	31,84	23,34
65,0	31,97	25,95	19,38	85,0	39,94	31,98	23,44
65,5	32,17	26,10	19,48	85,5	40,13	32,13	23,54
66,0	32,38	26,26	19,58	86,0	40,33	32,28	23,64
66,5	32,58	26,42	19,69	86,5	40,53	32,43	23,74
67,0	32,78	26,57	19,80	87,0	40,72	32,57	23,83
67,5	32,99	26,72	19,90	87,5	40,92	32,72	23,93
68,0	33,18	26,88	20,01	88,0	41,11	32,86	24,02
68,5	33,37	27,03	20,11	88,5	41,30	33,01	24,12
69,0	33,59	27,19	20,21	89,0	41,49	33,15	24,22
69,5	33,79	27,34	20,32	89,5	41,69	33,30	24,31
70,0	34,00	27,49	20,42	90,0	41,88	33,44	24,41
70,5	34,19	27,64	20,52	90,5	42,07	33,59	24,51
71,0	34,40	27,79	20,63	91,0	42,27	33,73	24,60
71,5	34,60	27,95	20,73	91,5	42,46	33,88	24,70
72,0	34,80	28,10	20,83	92,0	42,65	34,02	24,79
72,5	35,00	28,26	20,94	92,5	42,85	34,17	24,89
73,0	35,20	28,41	21,03	93,0	43,03	34,31	24,98
73,5	35,39	28,56	21,14	93,5	43,23	34,46	25,08
74,0	35,60	28,70	21,24	94,0	43,42	34,60	25,18
74,5	35,80	28,86	21,34	94,5	43,61	34,74	25,27
75,0	36,00	29,01	21,45	95,0	43,81	34,89	25,37
75,5	36,20	29,16	21,55	95,5	44,00	35,03	25,46
76,0	36,40	29,31	21,65	96,0	44,18	35,17	25,55
76,5	36,60	29,46	21,75	96,5	44,38	35,32	25,65
77,0	36,79	29,61	21,85	97,0	44,57	35,45	25,74
77,5	37,00	29,77	21,95	97,5	44,76	35,60	25,84
78,0	37,19	29,91	22,05	98,0	44,95	35,74	25,93
78,5	37,39	30,06	22,15	98,5	45,14	35,88	26,02
79,0	37,59	30,21	22,25	99,0	45,33	36,03	26,12
79,5	37,78	30,36	22,35	99,5	45,52	36,17	26,21
				100,0	45,71	36,31	26,31

(+) Calculado determinando-se o antilogaritmo do produto do expoente pelo logaritmo do peso.

Vol. 20 — Art. 6 Março de 1951

"RHINOPTES GALLINAE" N. G., N. SP. (ACARI - SARCOPTIFORMES: EPIDERMOPTIDAE), DAS FOSSAS NASAIS DA GALINHA, E CRITICA DO CONCEITO DE COHORTES NOS ACARIDIAE LATR.

POR

M. P. de Castro e C. Pereira

do Instituto Biologico de São Paulo

Com 5 figuras no texto

INTRODUÇÃO

No decorrer de trabalhos em andamento sobre a acarofauna nasicola das aves, constituida principalmente por especies de *Rhinonyssidae* VITZTHUM, tivemos oportunidade de encontrar um tipo de acaro pouco usual nessa localização. Trata-se de uma espécie indubitavelmente da familia *Epidermoptidae,* a segunda que se assinala nesse habitat. Alem de exigir para ela um novo genero, teve seu estudo o merito de levantar serias objeções ao criterio de OUDEMANS (1906) quanto á classica divisão dos *Acaridiae* LATR. nas Cohortes *Diacothricha, Monacotricha* e *Anacotricha.*

SISTEMATICA

Rhinoptes n. g.

Diagnose: *Epidermoptidae* com um escudo dorsal propodossomico. Dimorfismo sexual consistente na igualdade das pernas no macho e desigualdade nas da femea. Epimeros I livres. Os tarsos terminam em garras fortes e ventosa ambulacral dotada de pedunculo longo. As pernas III e IV teem os tarsos tão reduzidos, que simulam a existencia apenas de quatro articulos. Genitalia nos dois sexos, ao nivel da coxa III. Anus ventro-terminal. Penis curto, conico.

Especie-tipo: *Rhinoptes gallinae* n. sp.

Caracteres diferenciais: — Difere dos demais generos por serem as pernas III e IV mais desenvolvidas na femea do que no macho. Aproxima-se dos generos *Epidermoptes* RIVOLTA e *Turbinoptes* BOYD por ter garras em todos os tarsos; e mais ainda de *Turbinoptes* BOYD, pelo habitat e por apresentar redução no tamanho dos tarsos.

Rhinoptes gallinae n. sp.

Hosp.: *Gallus domesticus.*

Patria: Curitiba, Paraná, Brasil; C. PEREIRA col., Setembro de 1946.

Descrição (Figuras 1 a 6) baseada em dezoito exemplares, doze femeas, quatro machos e duas ninfas, colecionadas sob o numero 247 da Coleção de Artropodes da Seção de Parasitologia Animal do Instituto Biologico.

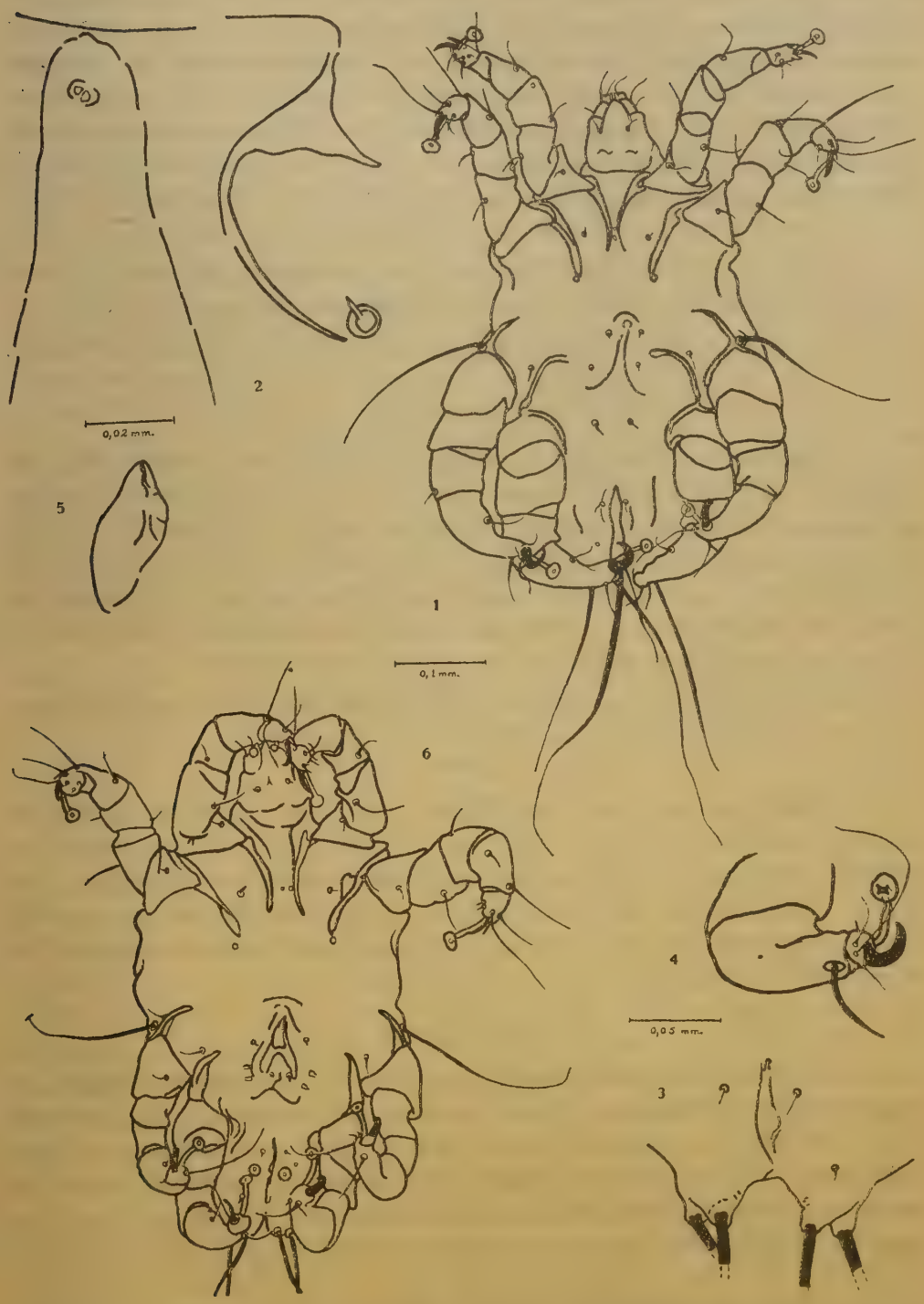
FEMEA (Figs. 1-5)

Forma oval alargada, côr branca, escleritos acastanhados, pernas I e II menores do que as III e IV, todas munidas de garras nas extremidades dos tarsos.

Face dorsal — Revestida por pele finamente estriada, com exceção da porção anterior, onde existe um escudo propodossomico pouco esclerosado e de contornos mal definidos. Nos cantos posteriores deste escudo ha duas cerdas, uma muito pequena (0,024 mm.) ao lado de outra muito grande (0,270 mm.). Anteriormente, no lugar correspondente ao par de cerdas verticais, ha uma pequena areola de implantação de cerda, que, examinada com objetiva de imersão, revela-se duplice, devendo ser considerada, portanto, como areolas geminadas (fig. 2). Lateralmente ao escudo, na altura da coxa I, encontra-se pequenino anel esclerosado, que exibe às vezes um como que espinho minusculo, que se implanta no proprio anel e não no espaço por este encerrado (fig. 2). A semelhança dessa estrutura com uma cerda subdesenvolvida parece apenas superficial. Parece não haver dúvida quanto á sua evidente correspondencia com o "Orgão de Grandjean" de outros *Acaridiae*: o anel representaria a fosseta supracoxal, extremamente reduzida, ao passo que o minusculo espinho seria miniatura do pormenor correspondente daquele orgão.

Face ventral — Revestida de pele mole, com raras cerdas muito pequenas, fazendo exceção um par lateral que se insere ao pé das coxas III. Os epimeros I são livres e ha entre um e outro dois pequenos círculos esclerosados de côr acastanhada. Existem circulos semelhantes nas proximidades das pontas dos epimeros II. A abertura genital feminina ocupa posição bem central no corpo e é flanqueada por dois pares de cerdas muito pequenas. Em alguns exemplares percebem-se dois pares de ventosas genitais obsolescentes. A abertura anal é uma fenda longitudinal terminal, ladeada por duas pequenas cerdas (fig. 3). Na extremidade posterior do corpo encontram-se duas tuberosidades onde se implantam duas cerdas muito longas, de cerca de 0,400 mm.

Pernas — Obedecem a dois padrões distintos. As pernas I e II são formadas por cinco articulos, dos quais o ultimo é curto e tem na extremidade distal um ambulacro com pedunculo longo e duas



Rhinacarus gallinae n. sp.: figs. 1-5 — Fêmea; fig. 1 — face ventral; fig. 2 — escudo dorsal; fig. 3 — analia; fig. 4 — tibia e tarso III; fig. 5 — quelicera; fig. 6 — macho, face ventral.

unhas, um pouco recurvas, das quais uma é pequena e a outra tem quasi o comprimento do articulo. As pernas III e IV são bem mais grossas e compridas; seus tarsos são tão reduzidos que, à primeira vista, dão a idéia de serem as pernas formadas apenas por quatro articulos (fig. 4). Na extremidade da tibia situa-se o pequeno lobulo que representa o tarso, que dá origem a um ambulacro de pedunculo longo, igual ao das duas primeiras pernas, a uma cerda longa e fina e a uma garra grande e fortemente recurva.

Gnatossomo — Pequeno, com palpos muito curtos, constituidos por dois articulos. As queliceras são curtas (fig. 5).

Dimensões — Comprimento 0,560 mm.; largura 0,280 mm.

MACHO (Fig. 6)

Parece-se muito com a femea, é muito pouco menor, tem as pernas III e IV tão grossas como as I e II, e não mais, como acontece na femea. A abertura genital masculina fica na altura da coxa III, tem penis conico curto e dois pares de ventosas genitais muito rudimentares. A fenda anal fica, como na femea, na borda posterior do corpo e é flanqueada por um par de cerdas pequenas e um par de ventosas copuladoras relativamente bem desenvolvidas.

Dimensões — Comprimento 0,550 mm.; largura 0,280 mm.

NINFA

Muito parecida com os adultos; mas tem o par de cerdas do escudo propodossomico, o par ao pé da coxa III e os dois pares terminais, relativamente menores. Garras relativamente maiores do que as dos adultos. Foi observada uma proteroninfa dentro de uma femea, com três pares de pernas, e garras relativamente maiores do que as dos adultos.

DISCUSSÃO

A especie que descrevemos levou-nos a um reexame do critério proposto por OUDEMANS (1906) para a subdivisão da supercohorte dos *Acaridiae*, e adotado, de então para cá, pela generalidade dos acarologistas. O critério em questão atribue maior significação ao numero das "cerdas verticais" da face dorsal anterior do acaro: duas para os *Diacotricha*, uma para os *Monacotricha* e nenhuma para os *Anacotricha*.

Ora, como *Rhinoptes gallinae* não tinha cerdas verticais, deveria ser considerado um *Anacotricha*. Entretanto, quando examinado com objetiva de imersão, uma areola situada ao nivel do lugar corres-

pondente a tais cerdas revelou-se de natureza geminada, de modo a sugerir a possibilidade de ser um *Diacotricha*. Neste caso, exigiria a especie que se criasse uma nova familia para recebê-la, por afastar-se muito de todas as da cohorte.

Pondo de lado esse criterio, e recorrendo ao conjunto dos seus caracteres, verificamos que a nova especie acomoda-se muito bem entre os *Epidermoptidae*, da cohorte *Anacotricha*, onde exigiria apenas a criação de um novo gênero.

Levando mais longe a analise do criterio de OUDEMANS (1906), fomos encontrar em trabalho anterior, do mesmo autor (1903), a aplicação do mesmo criterio que mais tarde iria adotar para a separação das cohortes, então para distinguir duas subespecies de *Glyciphagus domesticus* DE GEER: *G. d. concretipilis* OUDEMANS, 1903, caracterizado por ter "de fronthaaren gedeeltelijk vergroeid", e *G. d. unisetus* OUDEMANS, 1903, tendo, como indica o nome, "slechts 1 fronthaar"; se considerarmos que a subespecie tipica tem duas cerdas verticais, parece isso mais do que suficiente para estabelecer a completa impropriedade do caracter quando aplicado às unidades taxinomicas supraespecificas.

RHINOPTES GALLINAE N. G., N. SP. (*ACARI — SARCOPTIFORMES: EPIDERMOPTIDAE*), FROM THE NASAL CAVITY OF THE DOMESTIC FOWL, AND CRITICISM OF THE CONCEPT OF COHORTS IN THE *ACARIDIAE* LATR.

Abstract

This paper describes a new genus and new species: Rhinoptes gallinae.

Diagnosis of the genus: Epidermoptidae with only one dorsal plate. Legs III and IV of the female larger than those of the male. Epimera I free. Tarsi with strong claws and ambulacral suckers with long pedicel. Tarsi I and II short, tarsi III and IV reduced to a little lobe at the distal end of the tibia. Genitalia of both sexes between coxae III. Anus ventro-terminal. Penis short, conical.

Rhinoptes gallinae is peculiar in having a vestigial "areola" corresponding to the vertical setae that are characteristic of the cohort Diacotricha, but by other characters, it should be classified as Epidermoptidae and then a Anacotricha.

Reviewing the litterature on Acaridiae the authors found that OUDEMANS (1903) *had made two subspecies of Glycyphagus domesticus* DE GEER: *G. d. concretipilus with two fused*

vertical setae, and G. d. unisetus with only one vertical seta. Later (1906) the same author used the same character to define the three cohorts of the Acaridiae. It seems to the authors that the cohorts of Oudemans are very artificial and based on an unfit character when applied to supra-specific taxonomic units.

BIBLIOGRAFIA

BOYD, E. M. 1949 — A new genus and species of mite from the nasal cavity of the ring-billed gull, (Acarina, Epidermoptidae). *The Journal of Parasitology*, 35 (3) : 295-300.

OUDEMANS, A. C. — 1903 — Acarologische Aanteekeningen VII. *Entomologische Berichten*, 1 (14) : 100-103.

OUDEMANS, A. C. — 1906 — Nieuwe classificatie der Acari. *Entomologische Berichten*, 2 (27) : 43-46.

Vol. 20 — Art. 7 Novembro de 1951

ESTUDOS SÔBRE A "GOMOSE DE PHYTOPHTHORA" DOS CITRUS

II — INFLUENCIA DO ESTADO DE VEGETAÇÃO DO HOSPEDEIRO NAS LESÕES EXPERIMENTAIS (1)

POR

Victoria Rossetti e A. A. Bitancourt

Do Instituto Biológico de São Paulo

Com 3 figuras no texto e estampas 18-22

INTRODUÇÃO

No primeiro trabalho desta série (ROSSETTI 1947), foram relatados os resultados de experiências de inoculação de diversos fungos do gênero *Phytophthora* em diferentes especies de *Citrus* e variedades de *Citrus sinensis* OSB. Essas especies e variedades apresentavam diferenças consideráveis de suscetibilidade a tais fungos, reveladas por diferenças no tamanho das lesões experimentalmente induzidas.

Esse trabalho também mostrou que havia uma variação, às vezes bem grande, no tamanho das lesões, não sòmente entre diversas plantas de uma mesma espécie ou variedade, como entre inoculações praticadas em pontos não muito afastados entre si, do tronco de uma mesma planta.

Por exemplo, na tabela 4 do trabalho citado, à página 109, em que são dadas, em centimetros, as medidas das lesões experimentais, vê-se que na variedade Setubal a media das 4 lesões, nas 5 plantas inoculadas foi de 4,5; 8,7; 10,1; 18,0 e 20,1 centimetros. Numa das plantas da variedade Barão, o tamanho das 4 lesões foi de 3,3; 11,4; 15,0 e 20,5 centimetros.

A observação do estado de vegetação das plantas da 2.ª experiência do referido trabalho (loc. cit. p. 102), revelou que elas se achavam em condições muito diferentes de brotação, havendo algumas com numerosos brotos novos, em inicio de desenvolvimento, outras com brotos já mais crescidos, e finalmente plantas em que não havia nenhum broto novo em estado de crescimento. Suspeitou-se que as diferenças no estado de brotação pudessem explicar diferenças no tamanho das lesões.

---

(1) Trabalho apresentado na primeira Reunião da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciencia, Campinas, 15 de Outubro de 1949 (Rossetti, V. e Bitancourt, A. A. — 1950 — Influência do estado de vegetação sôbre lesões experimentais de **Phytophthora citrophthora** em plantas podadas. Ciência e Cultura 2 :47).

Os autores consignam aqui seus agradecimentos ao Dr. Sylvio Moreira, Chefe da Sub-Divisão de Horticultura do Instituto Agronômico, e ao Dr. A. J. Rodrigues Filho, na ocasião chefe da Estação Experimental de Citricultura de Limeira, que facilitaram a realização dêstes trabalhos, pondo à disposição os viveiros e demais material que se fizeram necessários; e ao Dr. K. Silberschmidt pela leitura critica do manuscrito.

No presente trabalho analisamos a relação existente entre o estado de vegetação das plantas e o tamanho das lesões experimentais, utilizando-nos dos dados dessa segunda experiência, e apresentamos os resultados de experiências posteriores, planejadas com o fim de melhor esclarecer a natureza dessa relação.

OBSERVAÇÕES SOBRE AS RELAÇÕES ENTRE O ESTADO DE VEGETAÇÃO E AS LESÕES EXPERIMENTAIS

Durante o decurso da 2.ª experiência do trabalho já citado, foram feitas anotações cuidadosas do estado de vegetação das plantas, que foram classificadas nas três categorias seguintes:

a) plantas com inicio de brotação;
b) plantas com brotação nova desenvolvida;
c) plantas sem brotação nova.

As lesões (ROSSETTI 1947, tabela 4, p. 105) receberam uma nota de 0 a 5, de acôrdo com a seguinte escala logaritmica da área aproximada, em centimetros quadrados (comprimento x largura):

Area em cm^2	Nota
0	0
até 2,64	1
2,65 — 6,97	2
6,98 — 18,40	3
18,41 — 48,21	4
48,22 — 127,27	5

Em seguida as plantas foram grupadas, conforme a soma das notas de suas 4 lesões experimentais, em 5 classes de suscetibilidade, de 1 a 5, como se vê na primeira e segunda colunas da tabela 1. Foram então distribuidas, em cada classe, as plantas dos tres grupos representativos dos estados de vegetação, conforme consta das três ultimas colunas da mesma tabela.

O valor medio da suscetibilidade de cada série, na escala convencional adotada, parece indicar que o estado de brotação das plantas inoculadas teve pronunciada influência no tamanho das lesões experimentais, que foram maiores para as plantas com inicio de brotação do que para as com brotação desenvolvida, ou sem brotação nova.

Existe porém uma correlação, — embora não estatisticamente significante, — entre o estado de brotação e a suscetibilidade varietal, conforme se pode ver no diagrama de dispersão da fig. 1. Nesse diagrama estão representadas por pontos as 28 variedades. A abcissa de

cada ponto é dada pela media das áreas das lesões das 5 plantas de cada variedade; a ordenada, pela soma de notas dadas convencional-

Tabela 1. Distribuição de 170 plantas de diversas variedades de laranjeiras doces (*Citrus sinensis* Osb.) em 5 classes de suscetibilidade crescente, correspondentes a uma escala convencional de tamanho de 4 lesões experimentais provocadas por inoculações de *Phytophthora citrophthora*

Table I. Distribution of 170 sweet orange trees (Citrus sinensis Osb.*) of different varieties in 5 classes corresponding to a conventional scale of susceptibility according to the size of 4 experimental lesions induced by the inoculation of Phytophthora citrophthora*

Soma da notas das lesões	Suscetibilidade	Série a inicio de brotação	Serie b brotação meio desenvolvida	Serie c sem brotação nova
0-4	1	0	0	2
5-8	2	1	10	4
9-12	3	10	17	9
13-16	4	39	32	8
17-20	5	28	9	1
N.º total de plantas . . .		78	68	24
Suscetibilidade media . . .		4,21	3,59	3,08

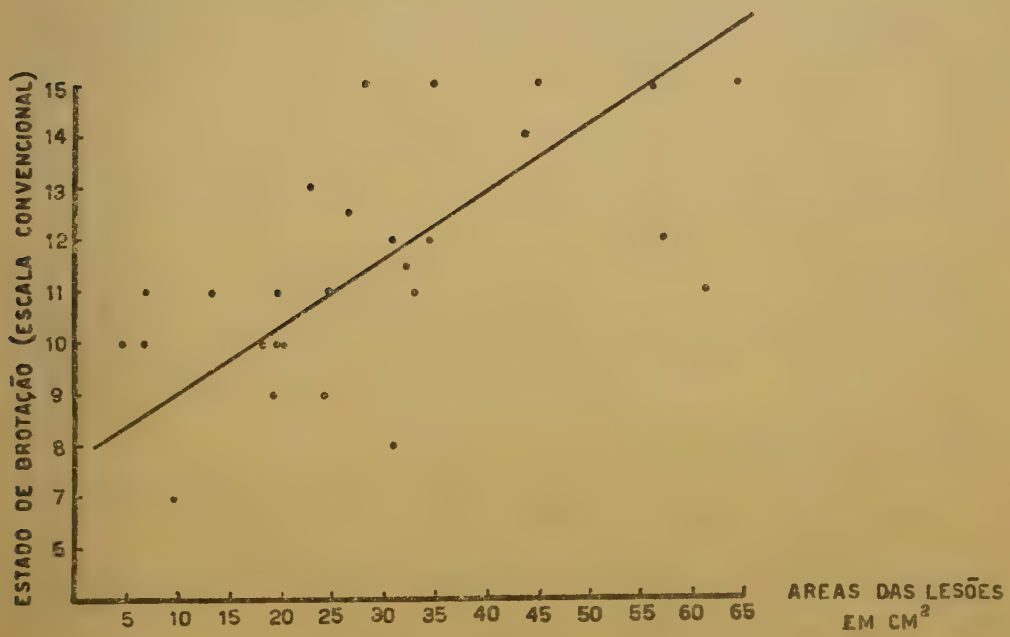


Fig. 1 — Diagrama de dispersão de 28 variedades de laranjeiras doce. Cada ponto tem por abscissa a media das lesões produzidas em 5 árvores por inoculação experimental, à razão de 4 lesões por árvore, e por ordenada o estado de brotação das mesmas árvores de acôrdo com uma escala convencional.

mente para estas plantas de acôrdo com o seu estado de brotação, na escala seguinte: plantas da série a: nota 3; plantas da série b: nota 2; plantas da série c: nota 1. O diagrama mostra que quanto maior a nota dada para a brotação, ou seja quanto maior o número de árvores com brotação incipiente ou meio desenvolvida, maior o tamanho das lesões.

Nestas observações, portanto, não foi possivel separar o efeito da suscetibilidade das variedades estudadas, do estado da brotação dentro de cada variedade. As experiências que constituem objeto do presente trabalho tiveram por fim apurar a influência propria do estado de vegetação das plantas, no tamanho das lesões experimentais, independentemente da suscetibilidade varietal.

MATERIAL E METODOS GERAIS

Com exceção da primeira experiência as plantas utilizadas eram pés francos de um viveiro, que não foram aproveitadas em tempo oportuno para formação de pomares, mas receberam os tratos culturais necessários à manutenção do bom estado de seu desenvolvimento. Tinham 5 e 6 anos de idade e eram plantadas em filas espaçadas de 2 m. com intervalos de um metro entre árvores da mesma fila. Devido a estas circunstâncias as plantas se achavam muito aproximadas entre si, o que provocou condições de umidade em torno do tronco, geralmente consideradas favoráveis ao desenvolvimento das lesões de gomose.

Na primeira experiência as plantas, com cerca de um ano de idade, estavam plantadas em vasos, na Fazenda "Mato Dentro", do Instituto Biológico, em Campinas.

Nessas experiências foi utilizada uma cepa de *Phytophthora citrophthora* (Sm. & Sm.) Leonian originalmente proveniente (cult. 147D) da coleção da Secção de Fitopatologia do Instituto Biologico, isolada em 1937 por Fawcett e Bitancourt (1940), e reisolada em Novembro de 1942 e novamente em Fevereiro de 1944, de lesões experimentais em *Citrus sinensis*.

Em todos os casos as inoculações foram praticadas de acordo com a técnica descrita no primeiro trabalho (Rossetti 1947). O inoculo é constituido por pequenos discos de 4 milimetros de diâmetro, retirados da periferia de um talo de *Phytophthora*, desenvolvido em meio de batata-agar-dextrose, durante cerca de 8 dias. O inoculo é colocado no orificio praticado, no tronco da planta a inocular, com um furador especial, que retira um disco de casca exatamente do mesmo diametro do inoculo. O disco de casca é recolocado no lugar, e

protegido por um quadrado de esparadrapo. A leitura do tamanho das lesões é feita, em geral, 15 dias após as inoculações, sendo as medidas tomadas com um paquimetro sôbre o lenho do tronco, depois de removida a casca. O comprimento é medido entre os dois pontos extremos, superior e inferior, da área descolorida; a largura, num ponto de largura média da lesão.

Considera-se, neste trabalho, como área da lesão, o valor obtido simplesmente pelo produto do comprimento pela largura, o qual representa aproximadamente a verdadeira área.

Na analise estatistica dos resultados foi sempre empregada a transformação logaritmica dos dados experimentais, acrescidos de 1. (Cf. ROSSETTI 1947, p. 104).

Tôdas as experiências foram realizadas durante os mêses de verão, de Dezembro a Março, quando prevalecem condições meteorologicas favoráveis ao desenvolvimento das lesões de gomose.

INOCULAÇÕES EM PLANTAS EM VASO APRESENTANDO DIFERENTES ESTADOS DE BROTAÇÃO

Cincoenta e duas laranjeiras de pé franco (laranja caipira) de dois anos de idade plantadas em vaso, foram separadas em 4 séries de 13, de acôrdo com o estado de brotação. A primeira série era constituida por plantas que apresentavam brotos muito novos, com fôlhas na sua maioria ainda fechadas; a segunda, com as de brotos em estado um pouco mais avançado, com as fôlhas mais desenvolvidas, de cerca de 3 cm. de comprimento; a terceira, com as de brotação bem desenvolvida, com fôlhas de 4 a 5 cm.; e a quarta com as de nenhuma brotação nova, isto é, com a vegetação no estado de repouso, que ocorre entre duas brotações sucessivas. Cada planta recebeu duas inoculações, a diferentes alturas, uma muito proxima ao colo, e outra mais ou menos a 20 cm. acima. As inoculações foram feitas em 12 de Março de 1946, e as leituras 15 dias depois.

Na tabela 2 estão representados os comprimentos das lesões, em centimetros, sendo *a* as lesões superiores, e *b*, as inferiores.

Os dados foram analisados estatisticamente pelo método da analise de variancia, trabalhando-se com os logaritmos dos dados, acrescidos de 1.

Para os estados de brotação, as medias logaritmicas foram: 1.ª série 1,050; 2.ª série 0,920; 3.ª série 0,765; 4.ª série 0,874, e as diferenças minimas significativas, foram, para o nivel fiducial de 5%, 0,161 e para o nivel de 1%, 0,213.

Tabela 2 — Comprimento, em centimetros, de lesões experimentais de *P. citrophthora*, de 15 dias, em plantas de 1 ano, de laranjeiras de pé franco, classificadas de acôrdo com o estado de vegetação

Table 2 — Length, in centimeters, of 15-day old experimental lesions of P. citrophthora on sweet orange seedlings, grouped according to their stage of vegetation

1.ª série		2.ª série		3.ª série		4.ª série	
Brotação nova no inicio de desenvolvimento		Brotos novos mais desenvolvidos		Brotação nova completamente desenvolvida		Sem brotação nova	
a	b	a	b	a	b	a	b
19,0	14,0	13,0	9,5	4,0	6,0	17,0	12,0
13,5	12,5	20,0	8,5	11,0	3,5	12,5	1,5
15,0	15,0	4,5	3,0	10,0	3,5	1,5	1,2
12,5	21,0	1,5	1,3	2,0	2,0	4,0	4,5
13,0	10,0	11,2	17,5	13,5	6,5	2,0	1,0
17,0	8,5	10,0	6,2	9,0	14,5	11,5	1,5
6,5	12,0	14,5	11,0	6,5	5,0	15,0	15,0
3,5	11,5	1,3	1,2	1,5	1,4	15,0	10,0
13,0	2,5	10,0	13,0	1,0	1,5	2,0	1,5
12,5	13,0	16,5	5,0	15,0	4,0	18,0	15,0
3,0	3,6	7,5	3,5	15,0	3,0	16,5	14,5
16,5	8,5	10,0	11,5	2,5	5,0	8,5	16,0
11,8	7,7	12,0	11,5	5,0	5,5	6,5	6,0
Médias	11,40		9,02		6,05		8,83

A variancia devida aos estados de brotação é altamente significativa.

Este resultado confirma as observações relatadas na primeira parte do presente trabalho, e indica que no momento da formação de novos brotos, as plantas são mais suscetiveis do que quando os brotos se acham mais desenvolvidos, ou quando a planta está em periodo de repouso vegetativo, entre duas brotações.

ANALISE DE VARIANCIA

Fonte de variação	g. l.	Soma de quadrados	Variancia	F
Brotações	3	1,085380	0,361793	4,25**
Alturas de inoc.	1	0,291395	0,291395	3,422
Brot. x Alturas	3	0,036462	0,012154	
Erro	96	8,175023	0,085156	

** Altamente significativo, nivel fiducial 1%.

INOCULAÇÕES EM LARANJEIRAS DOCES SUBMETIDAS Á PODA TOTAL, NO CAMPO

1.ª Experiência — Na experiência anterior, mesmo dentro de cada grupo, o estado de brotação não era uniforme. Assim, no grupo em inicio de brotação havia brotos muito novos de pouco mais de um centimetro de comprimento, com todas as folhas fechadas, e outros com uma ou duas fôlhas já estendidas e com cerca de 2 centimetros. Além disso, havia plantas apenas com dois ou tres brotos em inicio de desenvolvimento, e outras com cerca de dez desses brotos.

Na experiência que vamos relatar a seguir, provocou-se uma brotação uniforme, em grupos de plantas de diversas variedades de *Citrus sinensis*, por meio de uma poda total, sendo as inoculações praticadas depois de intervalos variaveis, quando as brotações subsequentes á poda tinham alcançado desenvolvimentos progressivamente maiores.

A poda foi efetuada em 23 de Dezembro de 1944, em 16 pés francos, de 5 anos, de cada uma das variedades: Coronel (muito suscetivel), Hamlin, Lisa Paulista (intermediarias) e Natal (mais resistente) (Rossetti 1947).

As inoculações foram feitas com o fungo *Phytophthora citrophthora*, — reisolado em Fevereiro do mesmo ano, de lesões experimentais feitas com a cultura 147D, — em 4 séries de 4 plantas de cada variedade, com intervalo de 8 ou mais dias entre elas, de maneira que as plantas apresentavam seus brotos em diferentes estados de desenvolvimento no momento de serem inoculadas. Na primeira série, em 15 de Janeiro, as plantas estavam iniciando a brotação, com as folhas da brotação nova ainda fechadas, inferiores a 1 centimetro de comprimento; na segunda série, em 22 de Janeiro (Fig. A, Estampa 18), os brotos mais desenvolvidos alcançavam 4 a 5 centimetros; na terceira série, em 1.º de Fevereiro, com as folhas já abertas, e o comprimento dos brotos superior a 10 centimetros; a quarta série de inoculações, em 11 de Março, foi feita quando as plantas apresentavam a folhagem completamente desenvolvida.

As inoculações foram em número de 4 em cada planta, nas faces ou posições: Norte, Sul, Leste e Oeste, do tronco. Fizeram-se, assim, em cada série, 16 inoculações para cada variedade. Desesseis dias depois de inoculadas as plantas de cada série, foram medidos o comprimento e a largura das lesões. Na tabela 3 estão representadas as medias geometricas das áreas aproximadas das 16 lesões (comprimento x largura) para cada variedade (Estampas 19 a 21).

Tabela 3 — Medias geometricas das áreas aproximadas, em centimetros quadrados de 16 lesões de *Phytophthora citrophthora*, em laranjeiras doces submetidas à poda total, e inoculadas sucessivamente em épocas diferentes, de acôrdo com o desenvolvimento da brotação

Table 3 — Geometric means of areas in square centimeters, of 16 lesions of P. citrophthora on sweet orange trees previously pruned and then inoculated at different periods according to the development of leaf shoots.

Variedades [a]	Início de brotação	Brotação intermediaria		Fim de brotação
	1.ª série	2.ª série	3.ª série	4.ª série
Coronel (4)	3,420	6,985	3,573	15,125
Hamlin (10)	1,885	3,638	2,469	3,041
Lisa Paulista (17) . . .	1,222	3,337	2,300	5,182
Natal (19)	1,058	3,211	2,040	3,112
Dias entre a poda e a inoculação	23	30	40	79
Precipitação atmosferica durante o desenvolvimento das lesões	69,8 mm.	34,2 mm.	29,4 mm.	128,9 mm.

[a] Os números que aparecem ao lado do nome das variedades são os da numeração da Estação Experimental de Limeira.

Os resultados foram analisados estatisticamente pelo metodo da analise variancia, usando o logaritmo dos dados, acrescidos de 1.

Fonte de variação	g. l.	S. Q.		Variancia		F
Estado de brotação	3	8,993771		2,997923		52,17**
Variedades . .	3	7,434991		2,478330		43,13**
Posições . . .	3	0,645152		0,215050		3,74*
Brot. x Variedades	9	1,936024		0,215114		3,74**
Brot. x Pos. . .	9	0,990785		0,110087		
Inoc. x Variedades	9	0,439608		0,048845		
Brot. x Var. x Pos.	27	1,032192		0,038229		
Plantas . . .	192	11,155482		0,058101		
	237		13,618067		0,057460[a]	

[a] Variancia de comparação.
** Altamente significativo, nivel fiducial 1%.
* Significativo, nivel fiducial 5%.

Para os estados de brotação, as medias logaritmicas foram: 1.ª série 0,230; 2.ª série 0,609; 3.ª série 0,405; 4.ª série 0,717, e as diferenças minimas significativas foram, para o nivel fiducial de 5%, 0,084 e para o nivel de 1%, 0,110.

Foram altamente significativas as variancias das variedades e do estado de brotação, assim como a interação brotação x variedades.

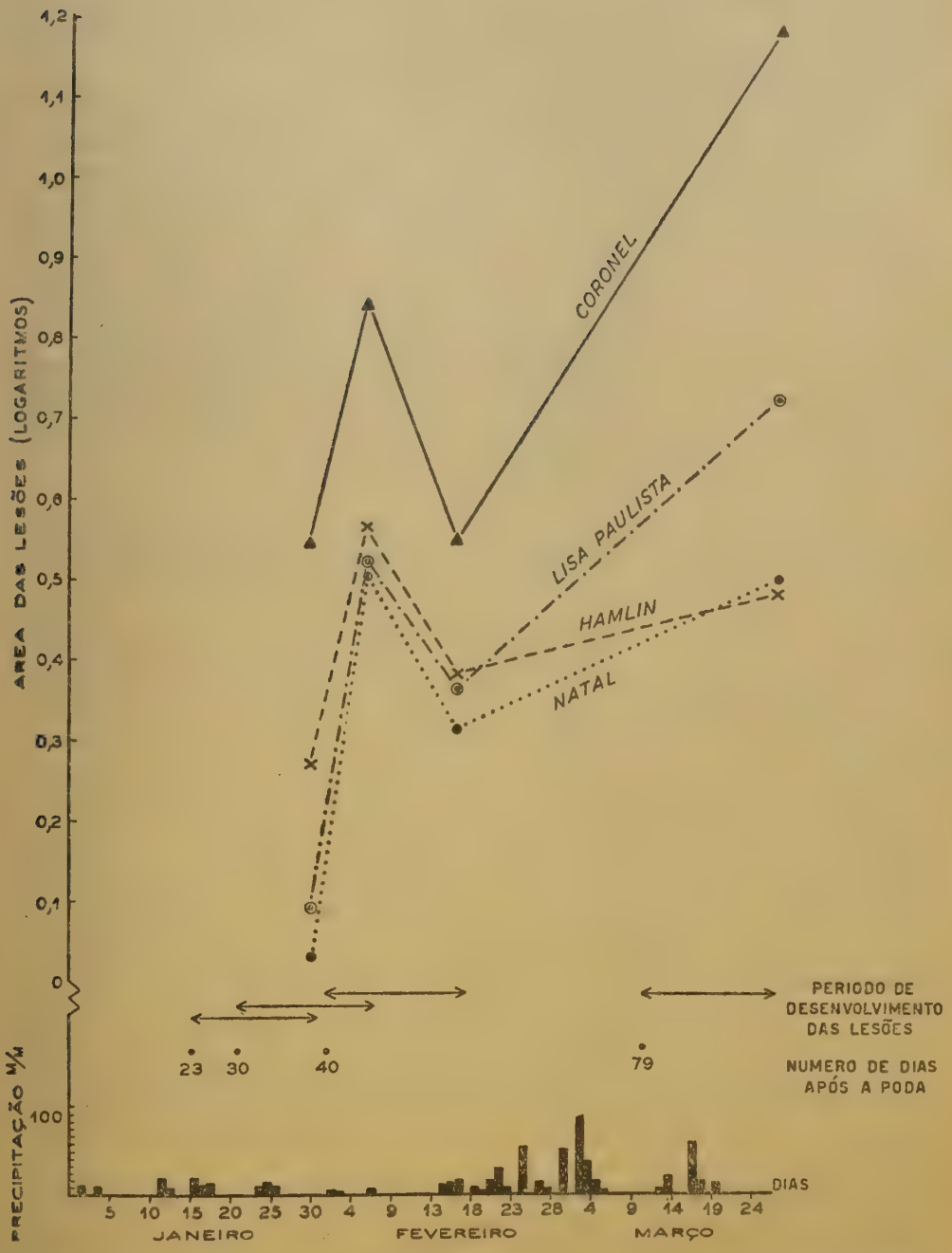


Fig. 2 — Primeira experiência de poda total. Na parte superior do gráfico estão representados os logaritmos das áreas das lesões das 4 séries. Cada ponto representa a media de 16 lesões. As setas duplas têm inicio no dia em que foi feita a inoculação e fim no dia da leitura dos resultados; abrangem portanto todo o periodo em que se desenvolveram as lesões. Os números por baixo da extremidade esquerda de cada seta indicam, para cada série, os dias decorridos entre a poda e a inoculação. Na parte inferior do gráfico está representada a precipitação atmosferica, em milimetros de chuva por dia.

Esta interação provem do efeito mais acentuado do estado de brotação na variedade susceptivel, Coronel, do que nas variedades mais resistentes, principalmente a Natal e a Hamlin.

Quanto maior o desenvolvimento da brotação, maior o tamanho das lesões, mas o aumento não foi regular, pois para tôdas as variedades, a media das lesões da 3.ª série foi menor do que da 2.ª série.

Este fato talvez encontre explicação no tempo mais seco que prevaleceu durante o periodo em que se desenvolveram as lesões da 3.ª série.

No gráfico da figura 2, estão representados em abcissas os 4 estados de brotação e em ordenadas a media dos logaritmos das áreas aproximadas das lesões para cada variedade. No mesmo gráfico está representada a queda pluviometrica de todos os dias, em milimetros, no periodo de duração da experiência.

2.ª Experiência — Para que, ao contrario do que sucedeu na experiência anterior, as lesões das 4 séries se desenvolvessem sob as mesmas condições meteorologicas, numa nova experiência as inoculações foram efetuadas no mesmo dia em plantas previamente podadas em 4 datas diferentes. Em cada série foram utilizados 4 pés francos, de seis anos, de cada uma das variedades Abacaxi (muito suscetível), Hamlin e Lisa Paulista (intermediárias) e Pera (mais resistente), (Rossetti 1947). As plantas das 4 séries foram podadas 67, 51, 36 e 18 dias antes da data da inoculação, nos dias 14 de Novembro, 30 de Novembro, 15 de Dezembro de 1945 e 2 de Janeiro de 1946, respectivamente. As inoculações foram feitas em 4 pontos da casca do tronco, a Norte, Leste, Sul e Oeste, em 20 de Janeiro. As árvores apresentavam os brotos em fases diferentes de desenvolvimento, conforme a época da poda, tendo-se assim 4 estados de vegetação para cada uma das variedades, como na primeira experiência. A leitura dos resultados foi feita em 5 de Fevereiro, tendo-se as lesões desenvolvido durante 16 dias, tôdas portanto, debaixo das mesmas condições meteorologicas.

A media geometrica das áreas para cada variedade consta da tabela 4.

A analise de variancia foi feita sôbre os logaritmos das areas, acrescidas de 1. Como, para a variedade Pera, foi omitida uma planta, por engano, os dados foram analisados de duas maneiras: desprezando inteiramente a variedade Pera que, como mostra o gráfico da fig. 2, não variou sensivelmente nas diferentes séries, e desprezando a última repetição de cada variedade. Como os resultados das duas análises foram concordes, damos aqui apenas a primeira delas, em que se desprezaram os dados da variedade Pera.

Tabela 4 — Medias geometricas das áreas, em cm², de 16 lesões de *P. citrophthora* em laranjeiras doces submetidas à poda total em épocas diferentes, e inoculadas 18 dias após a poda da ultima série

Table 4 — Geometric means of the areas, in square centimeters, of 16 lesions of P. citrophthora on sweet orange trees previously pruned at different times and inoculated 18 days after the last pruning

Variedades	Início de brotação	Brotação intermediária		Fim de brotação
	1.ª série	2.ª série	3.ª série	4.ª série
Abacaxi (1)	3,071	7,615	5,580	12,388
Hamlin (10)	2,513	2,532	4,092	18,120
Lisa Paulista (17) . . .	2,643	2,749	2,413	3,060
Pera (20)	2,294[a]	2,874	2,653	3,247
Dias entre a poda e a inoculação	18	36	51	67

[a] Media de 12 lesões: por engano, sòmente 3 plantas de laranjeira Pera foram inoculadas na 1.ª série.

ANALISE DE VARIANCIA

Fonte de variação	g. l.		S. Q.		Variancia		F
Estado de brotação	3		6,837348		2,279116		23,18**
Variedades . .	2		4,488627		2,244313		22,83**
Posições	3		0,420608		0,140202		1,43
Brot. x Variedades	6		4,227960		0,704660		7,17**
Brot. x Posições .	9	178	0,481970	17,498015	0,053552	0,098303[a]	
Inoc. x Variedades	6		0,191249		0,031875		
Brot. x Var. x Pos.	18		0,580851		0,032269		
Plantas . . .	145		16,243945		0,112027		

[a] Variancia de comparação.
** Altamente significativo, nivel 1%.

As medias logaritmicas das áreas das lesões para as duas variedades mais suscetíveis, nos diferentes estado de brotação, foram as seguintes:

Variedades	1.ª série	2.ª série	3.ª série	4.ª série
Abacaxi	0,487	0,882	0,747	1,093
Hamlin	0,400	0,403	0,612	1,258

As diferenças mínimas significativas foram, para o nivel de 5% 0,233 e para o nivel de 1% 0,308.

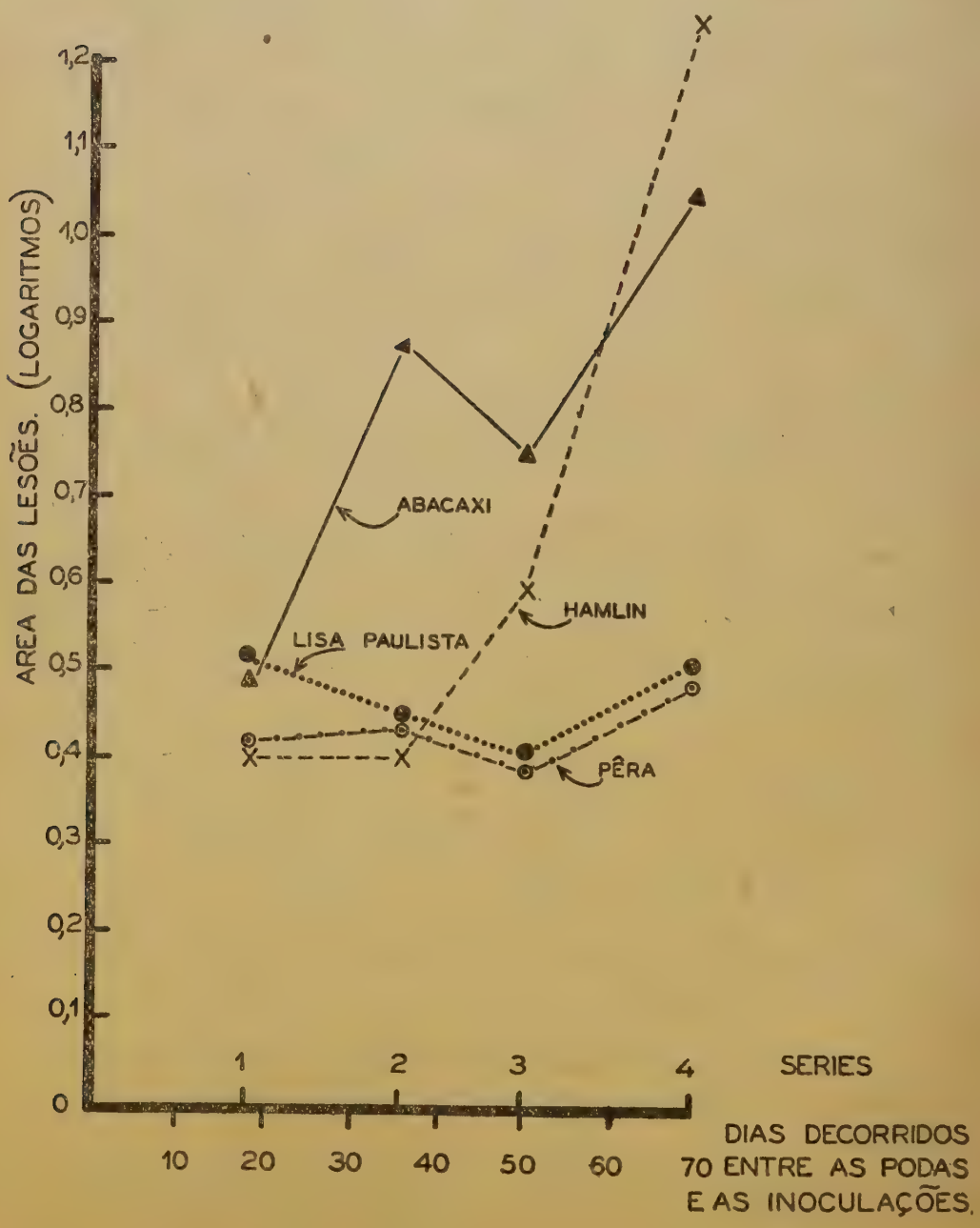


Fig. 3 — Segunda experiência de poda total. Logaritmo da área das lesões em centimetros quadrados, acrescida de 1. Cada ponto representa a media de 16 lesões, com exceção do primeiro da variedade Pera, que representa a media de 12 lesões.

Como na primeira experiência, a analise de variancia mostrou alta significancia para os efeitos do estado de brotação e das variedades, assim como da interação entre ambos, mas não para a posição das inoculações. A interação brotação x variedade foi mais acentuada do que na primeira experiência e tem a mesma explicação. Ao passo que o estado de brotação não teve efeito algum nas variedades resistentes Pera e Lisa Paulista, teve efeito marcado na Abacaxi e principalmente na Hamlin.

No gráfico da figura 3 estão representados, em abcissas, o tempo decorrido entre a poda e a inoculação, e em ordenadas, a media dos logaritmos das áreas aproximadas das lesões, acrescidas de 1. Neste gráfico, o primeiro ponto da curva, que representa o desenvolvimento das lesões da variedade Pera, é a media de 12 lesões, enquanto os outros são medias de 16 lesões.

INOCULAÇÕES EM LARANJEIRAS DOCES SUBMETIDAS À PODA UNILATERAL

Juntamente com a primeira experiência de poda total, foi feita uma experiência em que as árvores foram submetidas a uma poda unilateral, isto é, os galhos de uma metade da copa foram podados, ficando completamente despidos de folhas, enquanto a outra metade foi deixada com a folhagem intacta. (Fig. B, Estampa 18).

Escolheram-se 6 variedades: Abacaxi, Coronel (muito suscetíveis), Ouro, Lisa Paulista (intermediárias), Natal e Pera (mais resistentes) (ROSSETTI 1947), de cada uma das quais foram podadas unilateralmente 8 pés francos, de cinco anos, sendo duas em cada uma das posições Norte, Sul, Leste e Oeste. Em cada planta se fizeram 4 inoculações, com *P. citrophthora,* em 12 de Março de 1945, quando as metades podadas começavam a brotar, e as lesões foram medidas em 27 do mesmo mês, da maneira antes descrita. (Estampa 22).

A tabela 5 reproduz as médias geometricas das áreas aproximadas das lesões (comprimento × largura) para cada uma das 6 variedades, dos lados podado e não podado, das plantas.

Nota-se uma diferença considerável entre o tamanho das lesões no lado podado e no lado não podado, não sendo pois, conveniente fazer-se a analise estatistica englobada das duas séries de dados, mesmo depois de transformados logaritmicamente. A análise de variância para os dados do lado podado, e do lado não podado, feita separadamente, deu os seguintes resultados:

Tabela 5 — Medias geometricas das áreas, em centimetros quadrados, de 32 lesões experimentais de *P. citrophthora*, em laranjeiras doces submetidas a uma poda total sòmente numa das metades da copa. Medidas 15 dias após as inoculações.

Table 5 — Geometric means of the area, in square centimeters, of 32 lesions of P. citrophthora on sweet orange trees pruned on one side of the crown. Readings taken 15 days after inoculation.

Variedades	Lado podado	Lado não podado
Abacaxi (1)	9,962	51,040
Coronel (4)	5,021	47,440
Ouro (7)	4,435	35,040
Lisa Paulista (17)	3,658	14,000
Pera (30)	2,709	9,792
Natal (19)	1,789	4,080

ANALISE DE VARIANCIA

Fonte de variação	g. l.	Lado podado			Lado não podado		
		S. Q.	Variancia	F	S. Q.	Variancia	F
Variedades . .	5	5.139819	1,027964	12,33**	14,971155	2,994231	24,50**
Posição . . .	3	0,758201	0,252733	3,03*	0,307609	0,102536	
Var. x Pos. . .	15	1,379360	0,091957		3,366992	0,224466	1,84
Erro	72	6,005083	0,083404[a]		8,800166	0,122225[a]	

[a] Variancia de comparação.
** Altamente significativo nivel 1%.
* Significativo, nivel 5%.

A variância das variedades foi altamente significativa, em ambos os lados, podado e não podado; a posição da inoculação, foi simplesmente significativa, sòmente do lado podado, em que o tamanho medio das lesões foi de 4,195 cm., 5,480 cm., 7,680 cm. e 4,254 cm., para as posições Norte, Leste, Sul e Oeste, respectivamente. A menor insolação do lado sul das plantas talvez explique este efeito de posição.

Foram igualmente comparadas, pela análise de variância, as variações entre plantas e dentro de plantas.

ANALISE DE VARIANCIA

Fonte de variação	g. l.	Lado podado			Lado podado		
		S. Q.	Variancia	F	S. Q.	Variancia	F
Entre plantas .	47	12,478317	0,265496	15,85**	23,750143	0,505322	6,56**
Dentro de plantas	48	0,804146	0,016753		3,695779	0,076995	

** Altamente significativo, nivel 1%.

A alta significância encontrada para a primeira em relação à segunda, indica que, conforme se podia esperar, o tamanho das lesões varia muito mais de planta a planta, dentro de uma mesma variedade, do que para as 2 inoculações praticadas numa mesma planta.

DISCUSSÃO

As experiências que acabam de ser descritas mostram que existe uma influência real do estado de brotação da planta no tamanho das lesões experimentais provocadas pela inoculação de *Phytophthora citrophthora* na casca do tronco da laranjeira doce.

Pela analise que fizemos do trabalho anterior (ROSSETTI 1947) e pelos resultados da primeira experiência relatada no presente trabalho, conclue-se que, em plantas não podadas, quanto menos desenvolvidos os brotos, maiores são as lesões. O estado fisiológico ativo de uma planta durante o surto vegetativo, caracterisado por uma circulação mais abundante nos vasos da casca do tronco, deve causar o aumento de certas substâncias favoráveis ao crescimento do fungo. Ao contrario, durante o estado de repouso, entre dois surtos de brotação, deve processar-se um desaparecimento gradual de tais substâncias.

Nas experiências de poda é provavelmente também à atividade fisiológica dos tecidos que se deve atribuir o aumento paralelo do tamanho das lesões e do desenvolvimento dos brotos em seguida à poda, pois essa atividade acompanha de perto o aumento da superficie foliar.

Há entretanto uma contradição aparente entre os dois grupos de experiências, pois no primeiro as lesões eram maiores no inicio da brotação e no segundo, quando o desenvolvimento dos brotos já tinha

terminado. Existe, porém, uma diferença fundamental entre as plantas dos dois grupos. No primeiro, além de fôlhas em começo de desenvolvimento, havia, muito mais numerosas, fôlhas completamente desenvolvidas. Nas quatro séries de plantas, a superfície foliar era mais ou menos a mesma. Ao contrário, nas plantas podadas, a superfície foliar, insignificante na primeira série em inicio de brotação, aumentou progressivamente até alcançar o máximo na última série, em que as fôlhas estavam completamente desenvolvidas. Na 1.ª experiência com plantas em vasos, portanto, o estado da copa de todas as plantas, quanto à superfície foliar, era comparavel às plantas do 4.º grupo, com fôlhas completamente desenvolvidas, nas duas experiências de poda.

Deve-se pois concluir que nestas experiências dois fatores estiveram em jogo. O primeiro, e aparentemente o mais importante, é representado pela superficie foliar, que determina o nivel básico da atividade fisiológica da planta. Esta atividade é baixa quando a superfície é pequena, como nas plantas podadas que apenas começam a brotar. E' máxima para as plantas com a copa completamente formada. O resultado da experiência da poda parcial também apoia a conclusão de que o tamanho da lesão experimental depende diretamente da presença de fôlhas na planta.

O segundo fator reside no acréscimo de atividade vegetativa que se manifesta no inicio dos surtos de brotação. Numerosas substâncias necessárias para o desenvolvimento dos novos brotos são mobilizadas e circulam pelos vasos da casca; é provavel que tais substâncias sejam necessárias para o bom desenvolvimento do parasita. Numa planta normal, não submetida à poda, a copa bem desenvolvida, possue o primeiro fator que corresponde à superficie foliar. No inicio da brotação aparece o segundo fator e as lesões experimentais são então maiores.

À luz destas experiências, a variação do tamanho das lesões de planta a planta de uma mesma variedade e entre as inoculações de uma mesma planta, tem uma explicação. De acôrdo com a presença de brotos novos em desenvolvimento, em número variável, as diversas plantas de uma mesma variedade deverão apresentar lesões de tamanhos diferentes. De outro lado, as diversas lesões de uma mesma planta deverão se desenvolver de acôrdo com a atividade fisiológica da casca do tronco no lugar inoculado. Esta atividade deverá depender, de um lado, da superfície foliar, e de outro, do estado de brotação da parte correspondente da copa.

Estas conclusões mostram que para bem apreciar as diferenças de suscetibilidade entre as diversas espécies ou variedades de hospedeiros deve-se levar em consideração o estado vegetativo das plantas em experiência. Si no momento em que se executam as inoculações uma das variedades está em periodo de brotação, é bem possível que ela manifeste lesões maiores que outra, mais suscetível, em estado de repouso vegetativo. Nas observações relatadas no principio deste trabalho, as variedades que se revelaram mas suscetíveis eram também as que possuiam a maior quantidade de brotos novos. Na escala de suscetibilidade estabelecida para as variedades de laranjeiras dôce (ROSSETTI 1947) a variedade Coronel, com lesões de 1,790 (media logaritmica) era mais suscetível que a variedade Hamlin com 1,424. Entretanto, na segunda experiência de poda, constata-se que no estado de repouso vegetativo entre dois surtos de brotação (4.ª série) as lesões da variedade Hamlin foram maiores que as da variedade Coronel.

O valor de uma escala de suscetibilidade estabelecida em experiências dêsse gênero é portanto limitado nos casos em que as plantas das diversas variedades não se encontram em condições idênticas de vegetação. Mas na realidade esta restrição sòmente se aplica a variedades que não diferem consideravelmente umas das outras, pois com exceção do caso que acabamos de citar, as experiências de poda confirmaram, de um modo geral, a escala de suscetibilidade estabelecida para as variedades estudadas (ROSSETTI 1947).

COOLEY (1944) realizou certo número de experiências do mesmo gênero das nossas, em seus estudos sôbre a podridão preta das raizes da macieira (*Malus pumila* MILL), causadas pelo fungo *Xylaria mali* FROMME. E' de especial interesse o efeito de podas dos galhos e de desfolhação por arrancamento das fôlhas na porcentagem de árvores infectadas e no tamanho das lesões produzidas. Ao passo que as testemunhas tinham lesões de 35 mm. em média, as árvores podadas, ou que tinham recebido outros tratamentos prejudiciais à sua vegetação, apresentaram lesões de 40 a 45 mm. A porcentagem de infecção foi mais alta no último caso. As experiências de desfolhação indicaram uma possivel relação entre a desfolhação e a suscetibilidade. Nas árvores desfolhadas houve maior porcentagem de infecção, principalmente das infecções profundas. COOLEY interpreta esses resultados como uma confirmação de observações anteriores que mostraram que a suscetibilidade da planta é maior nos periodos de baixa atividade metabolica das raízes.

As experiências de COOLEY com *Xylaria mali* conduziram portanto a conclusões diametralmente opostas às que tiramos das nossas experiências com *Phytophthora citrophthora*. E' verdade que os métodos experimentais não foram os mesmos, nos dois casos, mas apresentam bastantes analogias para que seja permitida uma comparação. Deve-se pois concluir que o parasitismo dos dois fungos é completamente diferente. *Xylaria mali* é visivelmente um parasita de tecidos enfraquecidos, ao passo que *Phytophthora citrophthora* ataca plantas em plena atividade vegetativa, não tendo sido nunca observado que plantas fracas fossem mais atacadas do que as vigorosas.

FAWCETT (1936), na sua análise dos fatores contribuintes que influem na severidade da gomose de *Phytophthora*, não se referiu ao vigor das plantas.

STUDIES ON PHYTOPHTHORA GUMMOSIS OF CITRUS. II - INFLUENCE OF THE STATE OF VEGETATION OF THE HOST ON THE SIZE OF EXPERIMENTAL LESIONS

Abstract

An examination of the results of an inoculation experiment reported in the first paper of this series (Rossetti 1947) showed that trees with young shoots had larger lesions than trees at the end of a growth cycle, or in between two cycles of growth. Inasmuch as the most susceptible varieties were also those that exhibited new shoots at the time of inoculation, the influence of the state of vegetation could not be isolated from that of varietal susceptibility. An experiment was therefore performed in which 52 two-year old potted sweet orange (Citrus sinensis OSB.*) seedlings were divided in four groups of 13, according to the stage of development of new flush of growth. In group I the trees had several very young shoots with leaves still folded; in group II the terminal leaves of the young shoots had reached 3 cm. in length; in group III the young leaves were 4-5 cm. in length and in group IV the plants displayed no young growth. Each tree was inoculated at two sites with Phytophthora citrophthora and the readings (logarithm of length in cm. + 1) after 15 days were : 1,050, 0,920, 0,765 and 0,874 (Minimum significant differences, 5% level: 0,161; 1% level: 0,213). Thus in the presence of very young developing shoots, lesions were larger than when shoots were well developed or when there was no flush of growth.*

In another experiment five-year old seedlings of the "Coronel" (susceptible), "Hamlin" and "Lisa Paulista" (intermediate) and "Natal" (resistant) varieties of sweet orange were pruned so as to be completely deprived of their green parts. Four trees of each variety were inoculated at 4 different sites 23, 30, 40 and 79 days after they were pruned, so that the young shoots were at increasing stages of development at the time of inoculation. In the last group, inoculated 79 days after pruning, the shoots were fully developed. Readings (logarithm of length × width + 1) were made 16 days after inoculation. The geometric mean of the approximate area of the lesions is given in table 3 and reproduced in the graph of fig. 2. It shows that there was a marked increase in the size of the lesions as the shoots developed. In the third group however, the lesions were smaller than in the second group. This is possibly accounted for by the lower rainfall occurring during the development of the lesions of the 3rd group as shown on the graph.

In order to avoid the effect of different meteorological factors in the four groups of plants, another experiment was performed, in which the "Abacaxi" (susceptible), "Hamlin" and "Lisa Paulista" (intermediate) and "Pera" (resistant) varieties of sweet orange were used. The trees were pruned on November 14, 1945 (group 4). November 30 (group 3), December 15 (group 2) and January 2, 1946 (group 1). In each group four 6 year old seedlings of each variety were inoculated on January 20, 1947 at four sites with P. citrophthora and readings were made on February 5. Therefore contrary to the previous experiment, the same meteorological conditions prevailed during the development of the lesions in the four groups of plants. The geometric mean of the approximate area of the lesions is given in table 4 and represented in the graph of fig. 3. Whereas no effect of the stage of development of the shoots was observed in the case of the resistant variety "Pera" and the intermediate "Lisa Paulista", in the case of the intermediate "Hamlin" and the susceptible "Abacaxi" varieties the same increase in size of lesions with the size of shoots as in the first experiment was observed. The two experiments therefore show that, at least in the case of the susceptible varieties, there is a marked increase in the size of experimental lesions as the shoots develop. Lesions are maximum when the leaves have attained their full size and the crown of the tree is completely restored. It seems reasonable to ascribe this effect to the increased physiological activity in the bark of trees, which results from the increase in the leaf surface as the shoots develop.

In another experiment pruning was done on one half of the crown so that one side of the tree was deprived of all its leaves. Eight 5-year old seedlings of "Abacaxi" and "Coronel" (susceptible), "Ouro" and "Lisa Paulista" (intermediate) and "Natal" and "Pera" (resistant) varieties of sweet orange were inoculated with P. citrophthora at four sites, two of those on the pruned side and two on the other side, 15 days after pruning, when new shoots had started to develop on the pruned side. Readings were made 15 days later and their results are given in table 5. Lesions on the side that was left intact were considerably larger than on the pruned side, thus confirming the results of the previous experiments.

There is an apparent contradiction between the results of the pruning experiments and those of the experiment in which the groups of trees were classified according to the occurrence of new flush of growth at different stages of development. In the latter case the lesions were at a maximum in the group with the youngest shoots. In the pruning experiments lesions were at a minimum at that stage. There is however a fundamental difference in the condition of the trees in the two cases. In the pruning experiments the trees had been completely deprived of their full grown leaves and only young, very small leaves occurred in the first group. In the other experiment however, the crown was untouched and was practically of the same size in the four groups of trees.

It seems therefore safe to conclude that in the experiments just described, two factors influenced the size of the lesions. The first and most important one is the leaf surface which was at a maximum in the fourth group of pruned trees. The second one is the additional effect of the presence of newly developed shoots. The increased physiological activity which prevails in the tree during the stage of early development of shoots is presumably favorable to the growth of the parasite, rendering the plant more susceptible to its attack.

Cooley's experiments (1944) on the effect of pruning and defoliation on infections of black root rot of apple trees caused by Xylaria mali led him to the conclusion, that the percentage of infections is higher when there is a reduction in the metabolic activity of the roots. Thus Xylaria mali behaves in exactly the opposite way as Phytophthora citrophthora.

BIBLIOGRAFIA

Cooley, J. S. — 1944 — Some host-parasite relations in the black root rot of apple trees. *J. Agr. Res.* **69** : 449-458. ilus.

Fawcett, H. S. — 1936 — Citrus Diseases and their Control, 2nd edition. MacGraw-Hill Book Co. New York. 656 pp. ilus.

Fawcett, H. S., & A. A. Bitancourt — 1940 — Occurrence, pathogenicity, and temperature relations of Phytophthora species on Citrus in Brazil and other South American Countries. *Arq. Inst. Biol., S. Paulo,* **11** : 107-118. ilus.

Rossetti, Victoria — 1947 — Estudos sôbre a "gomose de Phytophthora" dos Citrus — I — Suscetibilidade de diversas espécies cítricas a algumas espécies de "Phytophthora". *Arq. Inst. Biol., S. Paulo,* **18** : 97-124. ilus.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 18

Figs. *A* - *B* — Pé de laranjeira Lisa Paulista da 2.ª série, da primeira experiência de poda total, podado em 23 de Dezembro de 1944, fotografado em 22 de Janeiro logo após a inoculação em 4 pontos na base do tronco (cobertos com um quadrado de esparadrapo). Em baixo, à esquerda, vê-se a mesinha com os apetrechos usados para as inoculações; *B*, pé de laranjeira Abacaxi, inteiramente podado de um lado só, da experiência da poda unilateral.

(Fot. W. Rodrigues).

Estampa 19

Figs. *A* - *H* — Lesões produzidas em laranjeiras doces Natal (*A* e *E*), Lisa Paulista (*B* e *F*), Hamlin (*C* e *G*) e Coronel (*D* e *H*) na primeira experiência de poda total. *A* - *D*, 1.ª série, inoculada 23 dias após a poda; *E* - *H*, 2.ª série, inoculada 30 dias após a poda. Ligeiramente reduzido.

(Fot. W. Rodrigues).

Estampa 20

Figs. *A* - *G* — Lesões produzidas em laranjeiras doces Natal (*A* e *E*), Lisa Paulista (*B* e *F*), Hamlin (*C* e *G*) e Coronel (*D*) na primeira experiência de poda total. *A* - *D*, 3.ª série, inoculada 40 dias após a poda; *E* - *G*, 4.ª série, inoculada 79 dias após a poda. Lesões produzidas em Coronel, da 4.ª série estão representadas na estampa seguinte. Ligeiramente reduzido.

(Fot. W. Rodrigues).

Estampa 21

Fig. *A* — Lesões produzidas em laranjeiras doces Coronel da 4.ª série, inoculadas 79 dias após a poda. Ligeiramente reduzido.

(Fot. W. Rodrigues).

Estampa 22

Figs. *A* - *F* — Lesões produzidas em laranjeiras doces Lisa Paulista (*A* e *B*), Natal (*C* e *D*) e Coronel (*E* e *F*) na experiência de poda unilateral; *A*, *C* e *E*, lesões do lado não podado, *B*, *D* e *F*, lesões do lado podado. A fig. *E* representa tão sòmente uma parte da lesão. Ligeiramente reduzido.

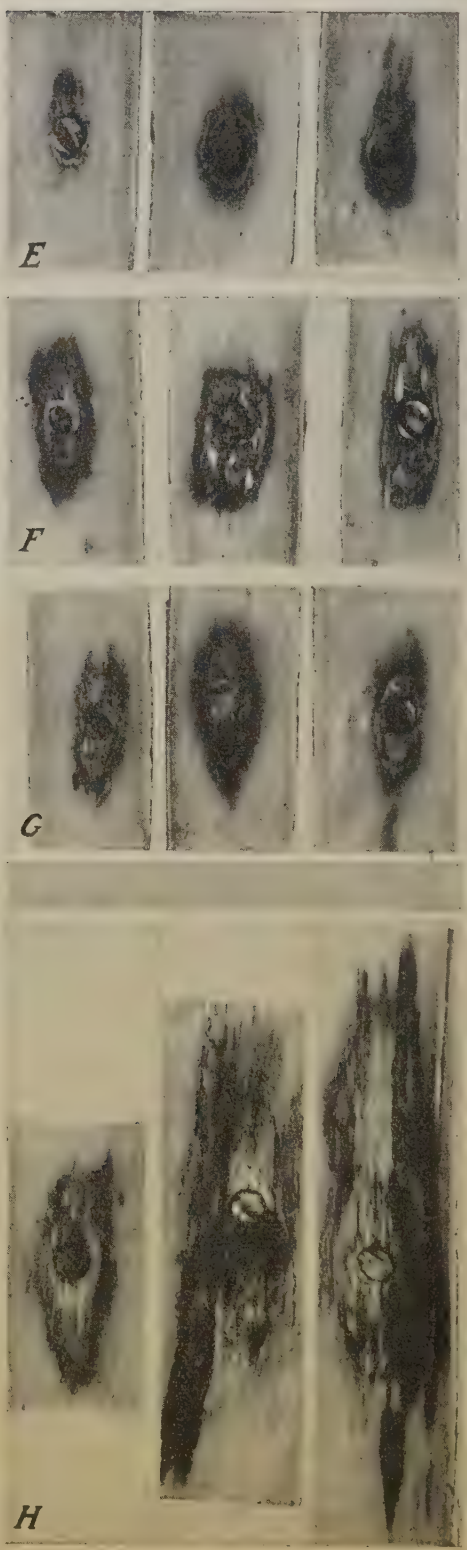
(Fot. W. Rodrigues).

———o———

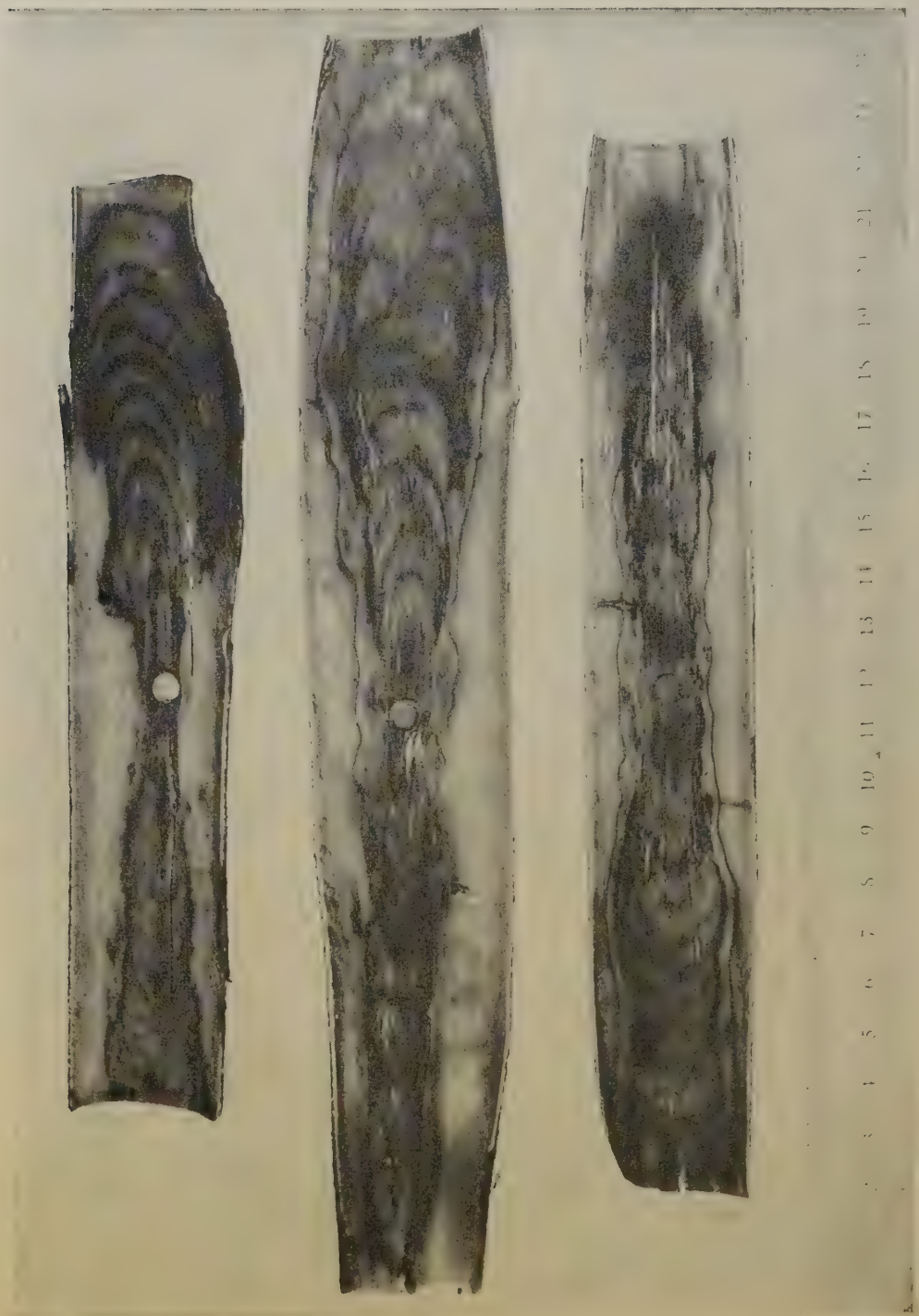
B

A

A
B
C
D


E
F
G
H

A
B
C
D
E
F
G



A
B
C
D
E
F

Vol. 20 — Art. 8 Novembro de 1951

BASES PARA A PREVISÃO DO APARECIMENTO DE SURTOS DE "REQUEIMA" DO TOMATEIRO EM SÃO PAULO (1)

POR

Anderson Coelho de Andrade

Do Instituto Biológico de São Paulo

Com 5 figuras no texto

No outono de 1950 a cultura do tomateiro, em vasta região do Estado, foi severamente atacada pela doença denominada vulgarmente "requeima", causada pelo fungo *Phytophtora infestans* (MONT.) DE BARY. Os prejuizos foram vultosos, pois ela se alastrou rapidamente, atingindo extensa área intensivamente cultivada com a solanacea, constituindo uma epifitia que afetou as regiões circunvizinhas da Capital: Jundiaí, Amparo, Bragança, Atibaia, Taubaté, Jacarei, Pindamonhangaba, e mais recentemente Campinas, Garça, Araraquara, São Carlos, São Pedro, Santa Rosa de Viterbo, etc.

O aparecimento de surtos desta natureza não são frequentes, pois dependem da associação de diversos fatores como: 1.º — uma fonte potencial de inóculo, 2.º — condições de ambiente favoráveis ao desenvolvimento do fungo (temperatura e umidade), e 3.º — presença de uma área intensivamente cultivada com plantas em boas condições para se infectarem.

Acreditamos que os prejuizos em 1950 se avolumaram mais do que nas epifitias anteriores e poderão no futuro tornar-se cada vez mais sérios, em virtude da grande intensificação da cultura de tomateiro, que se ampliou de 480 ha. em 1942-43 para 5.749 ha. em 1948-49 (ANONIMO, 1950). O terceiro requisito para uma epifitia foi portanto mais pronunciado do que nos anos anteriores.

Esses fatos demonstram a necessidade de se conhecer, em nossas condições, quais os fatores basicos que favorecem o desenvolvimento do patogeno, com o objetivo de alertar os agricultores quanto ao risco iminente que ameaça suas culturas de tomateiro, de modo a possibilitar a execução dos tratamentos preconizados, em momento oportuno.

(1) Apresento ao Dr. A. A. Bitancourt agradecimentos pelas valiosas sugestões e criticas que ofereceu na elaboração do trabalho, e aos diretores do Instituto Astronomico e Geofisico e do Instituto Regional de Meteorologia, que colocaram à nossa disposição os dados meteorologicos, constituidos pela temperatura maxima, minima, e precipitação atmosferica diária.

No presente trabalho, os dados meteorológicos da Capital e algumas localidades do interior do Estado de São Paulo são analisados em relação às epifitias de "requeima" assinaladas nestes ultimos anos, com o fim de se definir quais as condições de temperatura e umidade que prevalecem antes e durante o seu surto. Baseado nesses resultados e na literatura sôbre os fatores que favorecem tais surtos em outros países, foi estabelecido um criterio para a previsão da "requeima".

CONDIÇÕES FAVORÁVEIS Á REQUEIMA EM OUTROS PAÍSES

A literatura sôbre a relação entre o aparecimento da "requeima" e as condições climatéricas é bastante extensa. Faremos referências aos trabalhos relatados por COOK (1949), cuja publicação, aliás serviu de inspiração e orientação para o presente estudo.

Na Europa, diversos autores têm relacionado os surtos epifitóticos com as condições meteorológicas, dentre as quais se destacam as definidas por VAN EVERDIGEN, como essenciais para o desenvolvimento da *Phytophthora,* na Holanda: 1.º — temperatura noturna abaixo do ponto de orvalho, durante pelo menos 4 horas; 2.º — temperatura minima 10°C ou acima; 3.º — nebulosidade média no dia seguinte, 0,8 ou superior; 4.º — chuvas, nas proximas 24 horas, pelo menos de 0,1 mm.

Posteriormente BEAUMONT reduziu estes fatores a dois sòmente: temperatura minima, 10°C, e umidade relativa minima, 75%, pelo menos durante dois dias.

Trabalhos americanos, como os de LUTMAN, em Vermont, consideram a chuva como fator principal, sendo os seus efeitos entretanto limitados pela temperatura, nebulosidade e provavelmente pelos ventos; MARTIN concluiu que, em New Jersey, a "requeima" era favorecida, em julho, pela umidade e temperatura fresca; SANSON, analisando os dados de 60 anos, em Indiana, constatou que si a temperatura variava abaixo do normal e a chuva ligeiramente acima do normal, nos meses de julho, agosto e setembro, havia condições favoraveis ao aparecimento da doença; recentemente, COOK (1949) analisou, em exaustivo trabalho, as condições favoraveis á "requeima" na Virginia, Estados Unidos, concluindo que, para haver uma epifitia, era necessário que ocorram durante pelo menos duas semanas consecutivas e concomitantemente, chuvas acima do normal e media semanal da temperatura, entre maxima e minima, abaixo de 24°C. O periodo em que estas duas condições se acham preenchidas é por ele designado "periodo critico".

CONDIÇÕES METEOROLÓGICAS FAVORAVEIS À "REQUEIMA" EM SÃO PAULO

Inicialmente verificamos, por intermedio do fichario da Secção de Fitopatologia Geral, as datas e localidades onde foi constatada a doença no tomateiro, desde o seu primeiro registro em janeiro de 1938 até 1950:

Capital e arredores: 20-1-38, 4-2-39, 6-10-43, 11-11-43, 9-11-49, 19-3-50 e 12-10-50.

No interior: — Botucatú, 24-10-44; Souzas, 19-7-45; Taubaté, 6-6-49; Caçapava, 27-7-49; Suzano, 11-11-49; Mogi das Cruzes, 30-11-49 e 2-12-50; e em 1950: Jarinú, 25-4; Amparo, 10-5; Taubaté, 10-5; Atibaia, 17-5; Taubaté, 26-5; Jacarei, 25-5; Jundiaí, 6-6; Jaçanã, 24-6; São Carlos, 28-6; São Pedro, 30-6; Santa Rosa de Viterbo, 6-7; Garça, 22-7; Bragança, 25-7 e Araraquara, 28-7.

A proximidade do nosso laboratorio, dos lugares onde se cultiva o tomateiro na Capital e seus arredores, explica em parte por que neles foi constatada a "requeima" com mais frequência do que nas localidades do interior. Pelo mesmo motivo, e porque podemos realizar observações da doença no nosso campo experimental de Ibirapuera, este trabalho está principalmente baseado na ocorrência da "requeima" nesta região do Estado de São Paulo.

Neste estudo admitimos que as sete constatações da ocorrência da doença na região da Capital no periodo dos últimos 16 anos, corresponderam a seis epifitias das culturas de tomateiro. As constatações de 6-10 e 11-11-43, foram para isso consideradas como atinentes á mesma epifitia.

De acôrdo com os autores citados, as epifitias devem ser precedidas de um periodo critico em que houver uma queda brusca de temperatura, acompanhadas de chuvas acima do normal. Efetivamente, compulsando os dados meteorológicos da Capital, temperatura e precipitação atmosferica, constatamos que as seis epifitias foram precedidas pelo menos de um "periodo crítico" que se prolongou por cerca de duas semanas. Foi verificado que esse periodo critico antecedeu, respectivamente, de três semanas a constatação da epifitia de 20 de Janeiro de 1938; quatro semanas a de 4 de Fevereiro de 1939; quatro semanas a de 11 de Novembro de 1943; duas semanas a de 9 de Novembro de 1949; seis semanas a de 19 de Março de 1950 e no fim da segunda semana do periodo critico da epifitia de 12 de Outubro de 1950. Verificou-se que em 1937 houve 3 periodos criticos de 2 semanas e em 1938 um periodo critico, precedendo a constatação.

As diferenças no lapso de tempo entre a ocorrência do periodo critico e a constatação da doença provêm sem duvida do fato de nem sempre ter sido o material para estudo, enviado ao laboratório logo no inicio da epifitia.

A fim de comparar as condições meteorológicas que prevaleceram durante as epifitias e nos periodos em que a "requeima" não foi constatada, tratamos os dados meteorológicos de acôrdo com o criterio de Cook, que consiste em calcular a média das temperaturas maxima e minima diarias, aqui designada por temperatura mediana, e em seguida a media semanal dessa temperatura, e somar as precipitações atmosfericas correspondentes ao mesmo periodo.

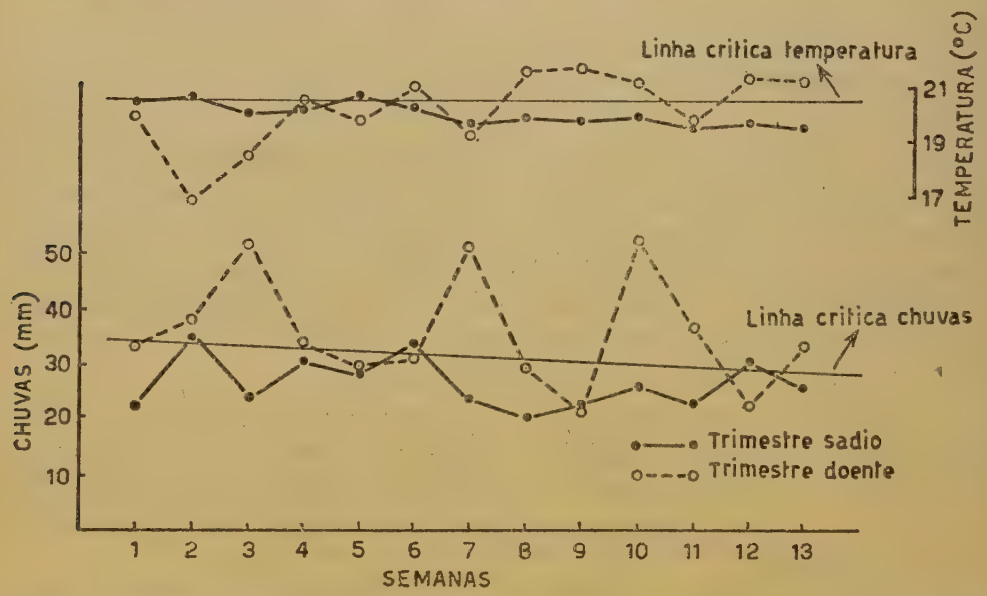


Fig. 1 — Comparação das medias da temperatura mediana semanal e precipitação pluviometrica acumulada semanalmente, de seis trimestres doentes (linha quebrada) com a media de 42 trimestres considerados sãos (linha continua).

Comparison of the weekly average mean temperatures and weekly cumulative rainfall, of six "blight quarters" (broken line) with the average weather data of 42 quarters recorded "healthy" (continuous line).

Consideramos que a cultura do tomateiro tem um ciclo aproximadamente de um trimestre, ou 13 semanas, e denominamos por "trimestre doente" os seis periodos de 13 semanas, durante os quais ocorreram as epifitias. Como inicio de cada um desses trimestres escolhemos a semana que começou aproximadamente 7 dias antes do primeiro periodo critico de 2 semanas. Foram assim iniciados os trimestres doentes nos dias 4-12-37, 10-12-38, 15-9-43, 29-9-49, 8-1-50 e 22-9-50.

Quanto aos dados meteorológicos, tratados de acôrdo com o criterio acima exposto, os trimestres doentes foram comparados com 42 trimestres considerados "sãos", durante os quais a "requeima" não foi constatada e que são 14 trimestres de primavera, iniciados em 1.º de setembro; 13 de verão, em 4 de dezembro, e 15 de outono, em 2 de março.

O gráfico da figura 1 representa, por uma série de circulos unidos por uma linha quebrada, as medias das temperaturas medianas e chuvas acumuladas semanais, dos 6 trimestres doentes; e por uma linha continua, as mesmas medias para os 42 trimestres sãos.

Com os dados correspondentes ás chuvas foi calculada uma linha de regressão, pelo metodo dos minimos quadrados. Designando a chuva em mm. por Y e semanas por X, esta linha tem por expressão a equação: $Y = 33{,}86 - 0{,}398\ X$

e portanto é muito proxima de uma linha horizontal, de ordenada 30 mm. Escolhemos esta linha horizontal como "linha crítica de chuva".

Uma "linha crítica de temperatura" horizontal de ordenada 20,4ºC foi escolhida por inspecção dos dados dos anos doentes, pois verificamos que mesmo com chuva superior a 30 mm. semanais, a requeima só aparecia quando a media semanal da temperatura mediana era inferior a 20,4ºC.

Apresentamos no gráfico da figura 2, os dados referentes aos seis trimestres doentes representados por linha quebrada, comparados com trimestres sadios correspondentes à mesma estação. Aplicando o criterio proposto acima, constata-se que nos trimestres doentes houve sempre uma coincidência dos fatores chuva e temperatura, favoráveis á doença, pelo menos em duas semanas consecutivas; o mesmo não se observa nos trimestres considerados sadios. As constatações verificadas na primavera de 1950, 1949 e 1943 revelam que a temperatura se manteve favorável ao patogeno quer nos anos sadios como nos doentes; mas estes caracterizaram-se por uma precipitação atmosferica muito acima da dos trimestres sadios. Constata-se também que os outros trimestres doentes, cujo periodo critico ocorreu no verão, foram caracterizados por um abaixamento da temperatura mediana, pelo menos em duas semanas consecutivas.

PREVISÃO DA REQUEIMA

Desta analise dos dados meteorológicos da Capital de São Paulo durante períodos trimestrais em que ocorreu ou não a requeima, pode-se concluir, confirmando os autores que citamos no inicio deste trabalho, que as condições necessárias ao desenvolvimento de *Phytophthora*

774

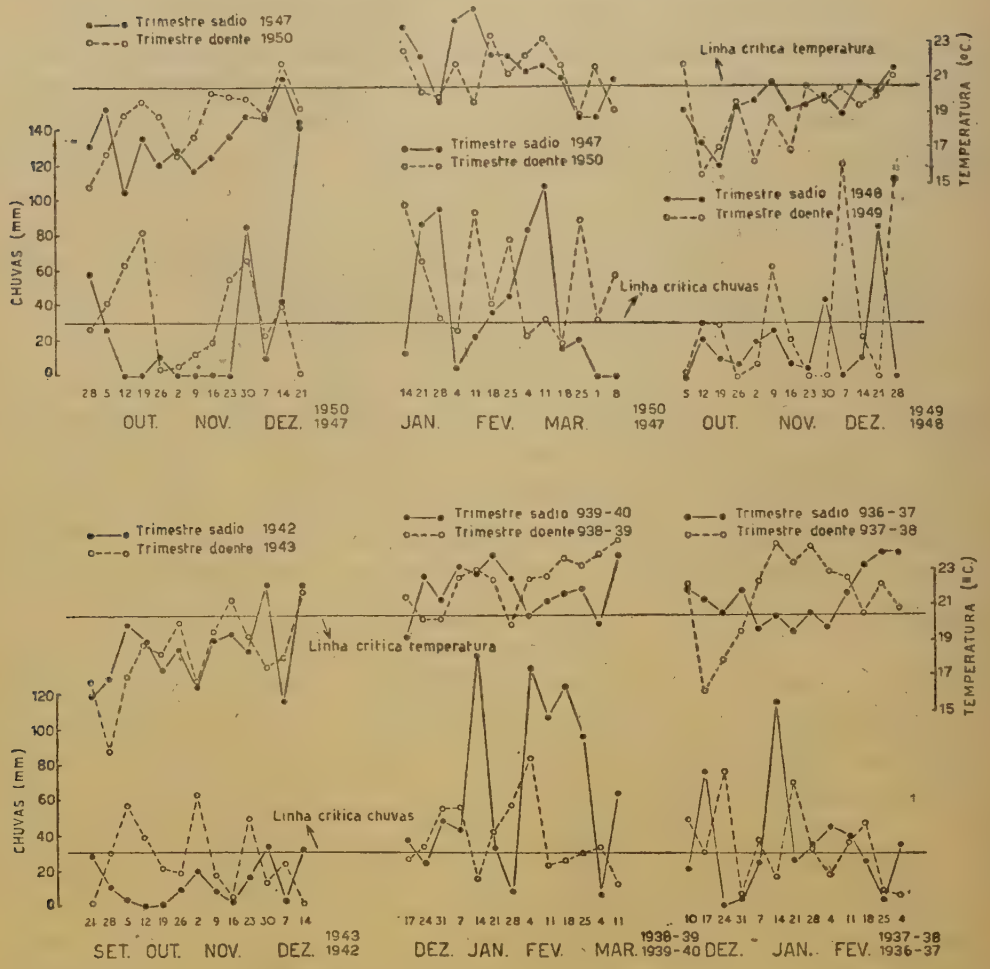


Fig. 2 — Comparação dos dados meteorológicos semanais de cada um dos seis trimestres doentes (linha quebrada) com o do trimestre sadio (linha continua) mais próxima do ano.

Comparison of the weekly weather data of each blight quarters (broken line) with the nearest "healthy quarter" (continuous line).

infestans nos tomatais da região são: 2 semanas consecutivas de temperatura mediana abaixo de 20,4°C e com chuvas acumuladas semanais pelo menos de 30mm. No grafico da figura 3 estão representadas todas as semanas dos trimestres de primavera, verão e outono, dos anos de 1934 a 1950, em que as duas condições se verificaram, ou uma só das duas, ou nenhuma delas. Verifica-se por este grafico que em todos os casos as duas condições se verificaram durante pelo menos duas semanas consecutivas nos trimestres doentes.

Os resultados da previsão efetuada no periodo analisado encontram-se resumidos na tabela I.

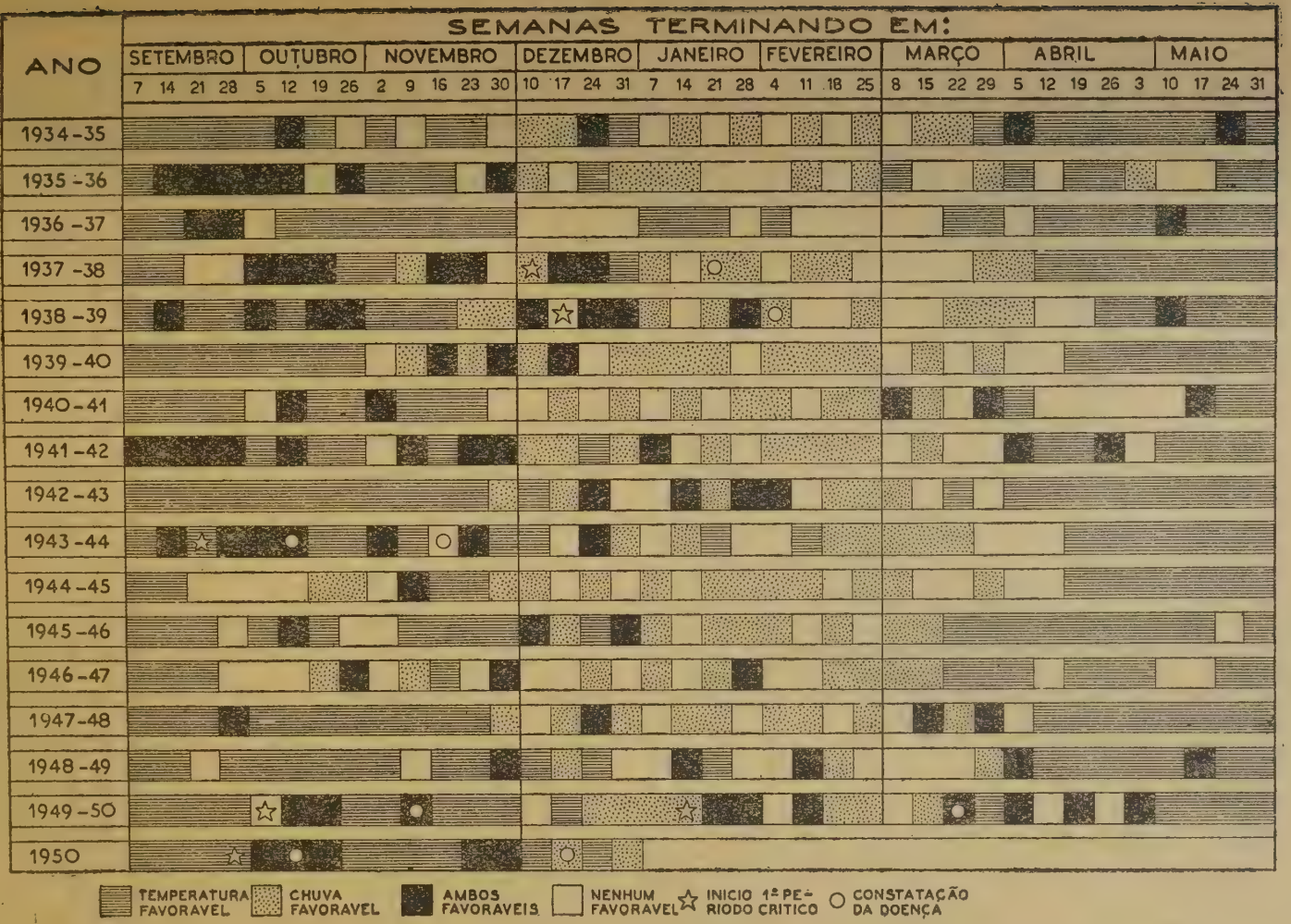


Fig. 3 — Sumário da temperatura e precipitação atmosferica semanais em relação com a previsão de surtos de "requeima" na Capital do Estado de São Paulo, no periodo 1934-50.

Summary of the weekly mean temperature and rainfall in relation to the forecasting of late blight epiphytotics of tomato in São Paulo city, for the period 1934-50.

Verifica-se portanto que na primavera de 1935, 36, 37, 38, 41, e verão de 42-43 ocorreram condições meteorológicas favoráveis ao patogeno mas não houve constatação da doença pela Secção de Fitopatologia Geral.

TABELA I

Datas em que foi prevista uma epifitia de "requeima e as constatações registradas na Secção de Fitopatologia Geral referentes á região da Capital do Estado de São Paulo

Dates of late blight epiphytotics forecast as compared with those recorded by Phytopathology Section for the São Paulo city area.

PREVISÃO		CONSTATAÇÃO	
Data	Trimestre	Data	Trimestre
21- 9-35 28- 9-35 5-10-35 12-10-35	Primavera	não houve	—
28- 9-36	Primavera	não houve	—
12-10-37 19-10-37 23-11-37	Primavera	não houve	—
24-12-37	Verão	20- 1-38	Verão
26-10-38	Primavera	não houve	—
31-12-38	Verão	4- 2-39	Verão
14- 9-41 21- 9-41 28- 9-41 30-11-41	Primavera	não houve	—
4- 2-43	Verão	não houve	—
5-10-43 12-10-43	Primavera	6-10-43 11-11-43	Primavera
19-10-49	Primavera	9-11-49	Primavera
28- 1-50	Verão	19- 3-50	Outono
12-10-50 19-10-50 30-11-50	Primavera	12-10-50 15-12-50	Primavera Verão

Em resumo, de 49 trimestres analisados, a doença foi constatada em 6, e não foi assinalada em mais seis, nos quais também houve condições favoraveis á doença. Consideramos também que ocorreram 36 trimestres sadios, nos quais não foi constatada a doença e não houve condições favoráveis ao seu aparecimento.

Podemos pois verificar que de 49 previsões efetuadas, foram corretas 42, indicando um acerto de 85%.

Do grafico da figura 3 deduz-se que na primavera ha, em geral, condições de temperatura propicias ao patogeno e que quando as chuvas são acima do normal, ocasionam condições favoraveis ao surto da "requeima". No verão, constata-se que ha chuvas abundantes que favorecem o desenvolvimento da "requeima" desde que haja abaixamento da temperatura. No outono verifica-se que em março as chuvas ainda são abundantes, mas a temperatura é desfavoravel á *Phytophthora;* de abril em diante a temperatura é favorável, mas as precipitações pluviometricas são, em geral, insuficientes para provocar o aparecimento da doença.

Quanto ao inverno, inspecionaram-se as precipitações pluviometricas, correspondentes aos meses de junho, julho e agosto, do periodo 1939-50, e verificou-se que não ocorreu a condição de umidade requerida para o aparecimento da doença, pois não foram constatadas chuvas acumuladas semanais superiores a 30 mm. em duas semanas consecutivas.

APLICAÇÃO DO METODO PARA O INTERIOR DO ESTADO

Infelizmente não dispomos de dados meteorológicos completos para as regiões mais atacadas pela "requeima". Conseguimos catalogar os dados meteorológicos referentes a Campinas, Monte Alegre, São Carlos e Botucatú.

Julgamos Campinas um exemplo interessante, pois efetuamos ensaios na Fazenda Experimental "Mato Dentro" durante o outono de 1950 e nossas culturas não foram atacadas nos meses de março, abril e maio, ao passo que o tinham sido os tomatais de São Paulo. Por outro lado, o municipio de Campinas é limitrofe do de Jundiaí, pesadamente atacado pela "requeima". A razão de Campinas não ter sofrido ataque em março, abril e maio pode ser compreendida analisando-se o grafico 4, fig. A.

O grafico da figura 4-A, representa, por uma série de pontos unidos por uma linha quebrada, as chuvas acumuladas semanalmente e a temperatura mediana do periodo março-junho 1950. Verifica-se que não houve coincidência de chuvas e temperaturas favoraveis durante o trimestre de março a maio. No mês de junho, observa-se que na semana terminada em 7-6-50, houve coincidência de condições de temperatura e chuvas favoraveis á "requeima", que apareceu em 10-6 nos tomatais da Fazenda "Mato Dentro" com fraca intensidade. Esse ataque durou até a primeira semana de julho.

No mesmo grafico, encontram-se representados por uma linha continua os dados meteorológicos de Campinas, referentes a setembro outubro, novembro e dezembro de 1949. Verifica-se que não houve

condições otimas consecutivas para a *Phytophthora*, cuja presença não foi assinalada em nossos ensaios, mas se manifestou em culturas da Capital, Suzano e Mogi das Cruzes, na mesma época

No grafico da figura 4-B, registramos os dados meteorológicos de Monte Alegre do Sul, cujos dados podem representar a cidade vizinha de Amparo, onde a "requeima" foi constatada em 10-5-50. Os dados do outono de 1950 acham-se representados por uma série de pontos unidos por uma linha quebrada, e por eles se verifica que nas semanas terminadas em 14 e 21 de abril houve coincidência de preci-

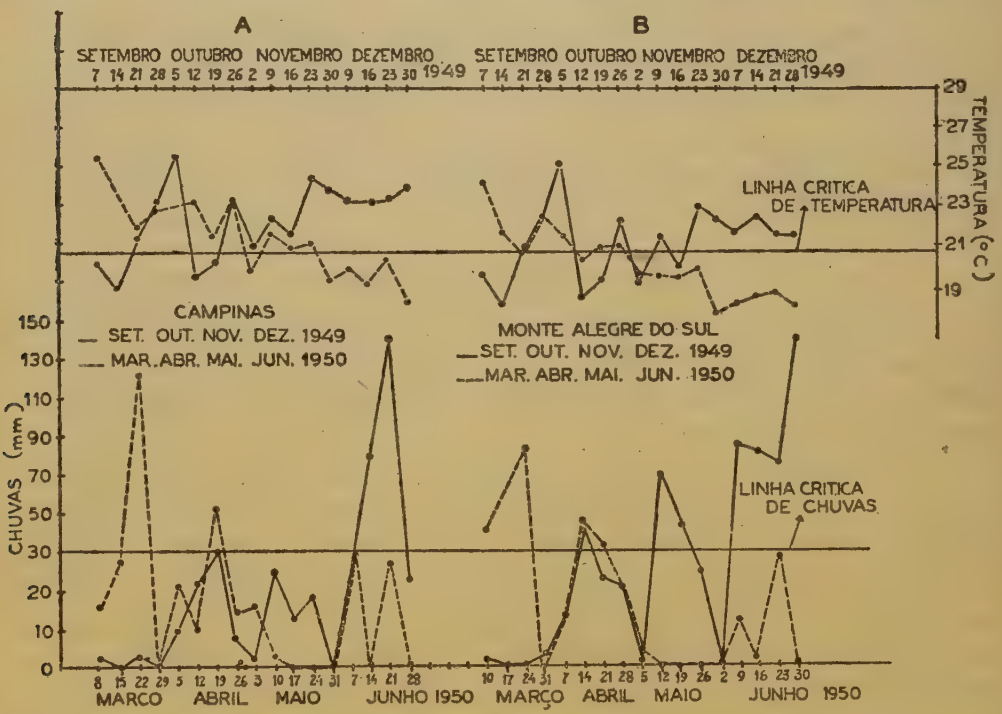


Fig. 4 — Comparação dos dados meteorologicos de trimestres doentes e sadios de Campinas (A) e Monte Alegre do Sul (B).

Comparison of the weather data of blight and healthy quarters at Campinas (A) and Monte Alegre do Sul (B).

pitações pluviometricas e temperatura favoráveis ao patogeno; portanto a doença foi prevista três semanas antes de sua constatação. No mesmo grafico exprimimos, por linha continua, os dados da primavera de 1949, quando não houve coincidência consecutiva dos fatores que favorecem o desenvolvimento do fungo.

No grafico da figura 5-A, ilustramos os dados de São Carlos, referentes aos mesmos periodos. Verifica-se que no outono de 1950, representado pela linha quebrada, houve duas semanas consecutivas,

terminadas em 20 e 27 de março, nas quais se deu a coincidência de temperatura mediana e chuvas acumuladas semanais favoraveis á "requeima". A constatação está registrada em 28 de junho, portanto 13 semanas depois da sua previsão; mas observamos que houve semanas alternadas, como 17-4 e 1-5 em que os fatores eram favoraveis ao desenvolvimento do fungo. No mesmo grafico os dados da primavera de 1949 demonstram que não houve condições consecutivas propicias ao patogeno.

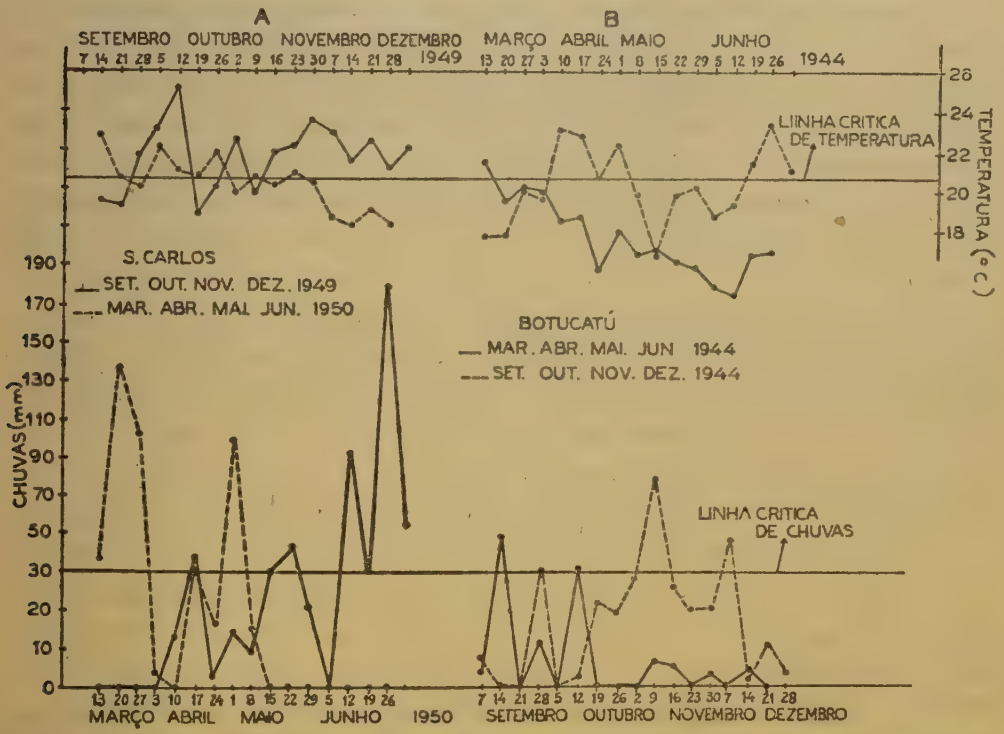


Fig. 5 — Comparação dos dados meteorologicos de trimestres doentes e sadios de São Carlos (A) e Botucatú (B).
Comparison of the weather data of blight and healthy quarters at São Carlos (A) and Botucatú (B).

No grafico da figura 5-B, encontram-se os dados da primavera de 1944 representados por linha quebrada, e outono do mesmo ano, por linha continua, referente a Botucatú. A previsão da doença teria sido feita em 9-11-44, isto é, no fim da 2.ª semana de condições favoráveis á "requeima". A constatação, no entanto, verificou-se em 24-10-44. Observa-se no mesmo grafico que a semana terminada em 28-9-44 proporcionou condições propicias ao patogeno mas não permitiria a previsão da epifitia.

DISCUSSÃO

Um dos aspectos críticos da previsão da "requeima", acreditamos, refere-se á formação da fonte de inóculo. Como vimos, um dos requisitos fundamentais para o aparecimento de uma epifitia consiste na existência abundante do fungo na natureza. No caso da *Phytophthora*, êste ponto assume aspectos interessantes, pois sabemos que ela pode atacar o tomateiro e a batatinha, tendo portanto fontes independentes e culturas bastante intensivas. No entanto êste problema oferece novas perspectivas em virtude da identificação de raças especializadas (RODER 1935); (GOIDANICH 1936) para algumas variedades de batatinha e para o tomateiro, tornando mais complexa a questão das fontes de inóculo. Quanto ao Estado de São Paulo não possuimos dados seguros para afirmar que estejamos perante uma raça específica para o tomateiro, apezar de termos malogrado nas tentativas de inoculação da batatinha com a *Phytophthora* isolada do tomateiro. Este assunto deverá ser elucidado por trabalhos efetuados em condições controladas.

Outro fato que parece indicar a presença de uma raça específica para o tomateiro, é o grau ótimo da temperatura mediana para o desenvolvimento da epifitia, pois os dados revelaram que a doença não se desenvolve em temperatura mediana semanal superiores a 20,4°C, enquanto (COOK 1949) menciona 24°C. Além disso, observamos que o aparecimento da "requeima" da batatinha é muito mais comum e generalizada nas culturas do Estado do que a "requeima" do tomateiro.

Uma analise das condições que precederam as epifitias poderá esclarecer como elas se originaram. Verifica-se que elas se manifestaram em virtude de ter havido anteriormente ao seu aparecimento condições ótimas para o desenvolvimento do fungo, embora muitas vezes o período não tenha se prolongado a ponto de provocar surto epifitótico. Esta afirmação pode ser melhor esclarecida analisando-se o surto de "requeima" de março de 1950; pelo grafico da figura 3, verifica-se que em outubro e novembro houve condições ótimas para a *Phytophthora*, que foi constatada no tomateiro e se propagou ativamente em Suzano e Mogi das Cruzes. Posteriormente, em janeiro e fevereiro, surgiram novamente condições favoráveis ao fungo, cujo surto passou despercebido, devido, segundo acreditamos, ser a cultura, nessa época, muito reduzida, e se encontrar na fase final; mas julgamos que a população de esporos estava-se desenvolvendo. Essa população, grandemente aumentada, ao encontrar em março e abril, condições meteorológicas ótimas, durante um longo periodo, e uma extensa área intensivamente cultivada, provocou os prejuizos já bastante conhecidos.

Outro fator que não deverá ser sub-estimado, de agora em diante, é a intensificação da cultura de tomateiros, pois provàvelmente os surtos anteriores da doença não tiveram a mesma severidade, devido ter sido menor a área cultivada.

Si compararmos nossas condições meteorológicas ótimas para *Phytophthora* ás referidas por Cook (1949) para a Virginia, verificaremos que temos melhores condições para multiplicação e persistência do inoculo na natureza. Na Virginia, a infecção só tem importância em fins de maio e junho, isto é, no fim da primavera, quando a temperatura ainda é baixa e as chuvas podem se intensificar anormalmente; posteriormente a temperatura se eleva ràpidamente, tornando as condições adversas ao patogeno, o que paralisa o avanço da doença.

Entre nós, aqui em São Paulo, verifica-se que no inverno, em geral, também não ha precipitação suficiente para o desenvolvimento do fungo; no entanto a doença pode manifestar-se durante tôda a primavera, prolongando-se no verão, e até repercutir fortemente no outono.

Quanto à eficiência do metodo, verifica-se que sua aplicação aos ultimos 16 anos demonstrou uma eficiência de 85%; e nota-se que poderiam ter sido previstos os surtos em todos os trimestres em que foi assinalada a doença.

BASIS FOR THE FORECASTING OF LATE BLIGHT EPIPHYTOTICS OF TOMATO IN SÃO PAULO

Abstract

The present paper reports an analysis of weather data from São Paulo city, in relation to late blight epiphytotics of tomato, caused by Phytophthora infestans (Mont.) De Bary with the purpose of determining the conditions of temperature and rainfall which prevail before and during epiphytotics.

The weather data were treated according to Cook's method which consists in expressing temperature as the mean of the 24 hour maximum and minimum, and taking the weekly average of those temperatures. The rainfall corresponding to the same period is sumed. The so-called critical period occurs when a sudden drop of temperature is followed by rains. The records of late blight in the Phytopathology Section during the last 16 years were taken as indication of the occurence of epiphytotics.

We consider that the tomato crop has a cycle of approximately three months and we call "blight quarters" the six periods of 13 weeks in which late blight was recorded. The beginning of each quarters

was the week that began approximately 7 days before the first critical period of two weeks viz., 12-4-1937, 12-10-1938, 9-15-1943, 9-29-1949, 1-8-1950 and 9-22-1950.

The weekly average mean temperature and rainfall of the six "blight quarters" were compared with the average weather data of 42 quarters considered as "healthy", during which late blight was not recorded. There were 14, Spring quarters, beginning September 1st.; 13 Summer quarters, December 4; and 15 Autumn quarters, March 2, Winter quarters were not used because the disease does not prevail during the dry season and the rainfall data confirm those observations.

These comparisons indicate that the conditions which must prevail for the development of P. infestans in the São Paulo tomato crops are: two consecutive weeks with an average mean maximum and minimum temperature under 20,4°C. and a weekly cumulative rainfall of at least 30 mm.

The forecasting method was applied to the period 1934-50. Twelve critical periods of two consecutive weeks occurred which were favorable to the development of the fungus, but the disease was recorded only in six blight quarters. For the 36 "healthy quarters" no two weeks critical period occurred and therefore epiphytotics could not be predicted.

Predictions based on this method would thus have been correct in 85 percent of the cases in the 49 quarters analysed.

The forecasting method was found to be adaptable to the São Paulo hinterland, e. g. the Campinas, Monte Alegre do Sul, São Carlos and Botucatu areas.

We think that the late blight epiphytotics of 1950, in the state of São Paulo has been more severe than the previous ones, because the tomato crop area has greatly increased from 480 hectare in 1942-43 to 5,749 hectare in 1948-49.

BIBLIOGRAFIA

ANONIMO — 1950 — Estimativas de safras do Estado de São Paulo, Secretaria da Agricultura — Secção de Previsão de Safras e Cadastro. Mimeogr.

COOK H. T. — 1949 — Forecasting late blight epiphytotics of potatoes and tomatoes. *J. A. Res.* 78: 12 pp. 545-563.

GOIDANICH, G. — 1936 — Ricerche suele "Phytophthorae" del pomodoro. II Marciumi del fusto causati da *Phytophthora infestans* (Mont) De By. Conozioni sulla specializzazione biologica di questo parassita. *Boll. R. Stazione di Pa. Vegetale di Roma,* XVI n. 5 pp. 3-10.

RODER, K. — 1935 — Untersuchungen über die Phytophtora krankheit (Phytophthora infestans) der Tomate unter besonderer berücksichtigung der biologischen spezialisation des Erregers. *Phytopath. Ztschrft* 8, pp. 589-614.

———o———

Vol. 20 — Art. 9 Novembro de 1951

POTENCIAÇÃO PÓS-TETANICA DA CONTRAÇÃO MUSCULAR NA COBAIA SOB ARSENITO DE SÓDIO

POR

J. Pereira Jr.

Do Instituto Biológico de São Paulo

Com as estampas 23-24

Desde meados do século passado têm sido verificadas no homem paralisias musculares progressivas, atribuidas à ingestão de trioxido de arsenico. Esses sintomas foram provocados no coelho em 1889 por ALEXANDER (cf. HEFFTER e KELSER, 1927).

No seu efeito muscular tal fenomeno se assemelha à ação do curare, donde ser a nossa atenção atraida para esta possivel atividade do arsenito de sódio como agente curarizante, em forma aguda, empregando-se a cobaia (*Cavia cobaya*) como animal de experiência.

A estimulação muscular direta com periodos tetanicos interpolados, ofereceu-nos a oportunidade de verificar o pequeno interêsse dessa dróga como agente curarizante rapido, permitindo-nos a possibilidade de estudar, sob um angulo farmacológico novo, o fenomeno da potenciação pós-tetanica da contração muscular.

PARTE EXPERIMENTAL

Cobaias macho, de peso entre 420 g e 500 g, são profundamente anestesiadas pela injeção intraperitoneal de solução de uretana etilica nas dóses de 1,0 até 1,30 gr./kg. em geral associada a igual dóse de glicose.

Os musculos gastrocnemio e solear da perna direita são abordados cuidadosamente através incisão no rebordo posterior da perna, evitando-se ferir os vasos sanguineos.

O animal, aquecido, é contido por três de suas extremidades em uma plancheta de madeira onde está solidamente instalado um clamp ao qual se fixa a extremidade distal da tibia e peroneo direitos.

Um fio de cordonê impregnado de mistura de cêra e breu é solidamente amarrado à extremidade livre dos tendões, para apoiar um gancho de aço, que os transfixa, recurvado e isolado por ebonite em sua extremidade distal. Aqui se prende um fio de cordonê impregnado de cera e breu, e posteriormente de aço delgado, que transmite a atividade muscular a uma alavanca isotonica em "after load", com ampliação de 26 vezes, sob 20 a 70 gr de carga.

A estimulação diréta do musculo se faz atravez de um fio de platina soldado à extremidade de um fio do circuito secundário, que passa atravéz a abertura posterior da perna, para se pôr em contacto com os músculos utilisados. Um fino fio de cobre fecha o circuito secundario no tendão, junto ao gancho de aço.

Os estimulos faradicos, submaximos e dirétos são produzidos por uma bobina de indução tipo Boulitte, com enrolamento secundário médio (n.º 3), cujo circuito primário é ativado regular e automaticamente por um contacto rotativo comandado pelo movimento do quimógrafo, fornecendo de 75 a 90 estimulos por minuto.

Uma chave de distribuição no circuito do acumulador ao primario da bobina permite o uso, sem intervalo, seja do estimulo isolado, seja do tetanico. A cobaia é mantida aquecida.

A solução de arsenito de sódio a 1 p. cento é injetada endovenosamente, atravéz o seio cavernoso, ao longo do nervo optico, segundo a técnica de PETTIT, 1913.

As estampas 23 e 24 reproduzem o positivo fotografico de fotostatos de traçados quimograficos, não retocados, reduzidos de 50%.

RESULTADOS

Nas cinco cobaias obtivemos 22 séries de estimulações, tanto normais — i. e. antes da injeção de arsenito de sódio — como após a intoxicação. Separada uma das outras por intervalos de repouso de 20, 10 ou 5 minutos, cada série durava de 5 a 30 minutos, (Tab. 1).

Efeitos sistemicos do arsenito de sódio. — Este tipo de preparação muscular salienta-se por conseguir manter a cobaia — mamifero muito mais exigente do que os vertebrados inferiores — em condições muito proximas à normal, apezar da anestesia; conserva-se a circulação sanguinea, o que garante a alimentação e oxigenação perfeitas dos tecidos, necessárias á manutenção da excitabilidade da preparação, como se depreende das Figs. Estampa 23: 1-A, -B, -C: 2-A, e -B: Tab. 1.

A bôa irrigação sanguinea afastaria aqui a possibilidade de cansaço facil da fibra muscular, bem como o acumulo de produtos da atividade desta, que poderiam facilitar o bloqueio da excitabilidade muscular, favorecendo ou mesmo simulando ação curarizante. A importância da manutenção de circulação, tanto quanto possivel, proxima do normal, é claramente acentuada por DENNY-BROWN, 1929, quando afirma: "Mammalian muscle is quite difficult to fatigue when the blood supply is good." pg. 390.

Obtidas as melhores condições para a preparação, verifica-se de fato que a resposta muscular ao estimulo isolado póde ser obtida mesmo por meia hora, sem evidentes sinais de fadiga (Estampas 23 e 24: Figs. 1-A: 2-A, -B: 3-A, A'). Tambem sob arsenito de sódio é possivel obter longos periodos de estimulação sem fadiga evidente. (Estampas 23 e 24: Figs. 1-B, -C : 2-C, C' : D,-D' e Tab. 1) como revéla a comparação da amplitude inicial, final e pré-tetanica.

Uma primeira observação se impõe quanto à ação do arsenito de sódio: qualquer que seja a dóse deste, verifica-se um aumento da força muscular em resposta aos choques simples (Estampa 23 Figs. 1-B: 3-B: Tab. 1). Segundo a dóse, esse aumento de força perdura por vários minutos, caindo depois progressivamente. A Fig. 3-B e seguintes da Estampa 24, mostram nitida elevação da força de contração no início da série de estimulações sob o efeito de uma dose de 8 mg/kg de arsenito de sódio, para 5 minutos após começar a descair até a morte do animal 12 minutos e meio após. E' de notar que esta dose é a metade da dose tóxica de arsenito de sódio intraperitoneal, cf. HEFFTER e KELSER, 1927.

A hipotermia, comum à ação de varios medicamentos, póde, sob arsenito (e uretana), atingir graus acentuados, apesar de aquecido o animal artificialmente, sendo frequente a temperatura de cerca de 33°C; em um caso chegou até a 27°C, terminais na cobaia sob 8 mg/kg de arsenito de sódio.

Um bloqueio parcial à estimulação muscular — curarização incompleta — nessas experiências agudas, só foi observado com doses de 2,4 e 4,3 mg/kg de arsenito de sódio; porem aqui pode-se atribuir esse efeito, em parte, à ação toxica desta dróga (e da anestesia) Estampa 24: Figs. 2-C e seg. e 3-B e seg.

Arsenito e potenciação pós-tetanica. — A ação do curare, profundamente estudada no musculo estriado de vertebrados inferiores, especialmente a rã, revela uma persistencia de bloqueio da transmissão neuro-muscular, tanto mais intensa e prolongada quanto maior a dose utilizada.

Os resultados obtidos na rã têm sido transferidos para a musculatura dos mamiferos e aí confirmados, até que BOYD, 1932, demonstrou na preparação hipoglosso-lingual "in vivo", no gato curarizado perfeitamente, que esse bloqueio póde ser vencido após curtos periodos (5 a 30 seg.) de estimulação tetanica do nervo hipoglosso, embora o musculo permaneça inteiramente inerte. Porem após o

tetano faradico, o musculo então quiescente passa a responder a uma ou mais estimulações isoladas, até que o bloqueio pelo curare se restabeleça rapidamente. Este fáto sugére a liberação, aumentada pelo tetano, de substancia(s) quimica(s) capaz(es) de aumentar a excitabilidade da placa motora, vencendo a curarização, emquanto presente(s).

Embóra o arsenito de sódio nas doses empregadas tenha antes diminuido progressivamente a força contrátil muscular aos estimulos isolados (Estampas 23 e 24: Figs. 1-C: 2-C e seg.: e 3-B: Tab. 1), após tel-a elevado de inicio (Estampas 23 e 24: Figs. 1-B: 3-B: Tab. 1), procuramos, pela faradização tetanica, vencer algum efeito curarizante seja em pleno desenvolvimento da intoxicação, seja "post-mortem" (Estampas 23 e 24: Figs. 1-B: -C: 2-F: 3-C).

Com surpreza verificamos que o musculo, quer antes quer após a ação do arsenito de sódio, e já submetido a varios minutos de estimulação por choques isolados, não só não apresenta diminuição da força contratil por esgotamento subsequente ao tetano, como ainda exibe, após este, um nitido aumento de força (potenciação da força contratil) (Estampas 23 e 24: Figs. 1-A: -B: -C: 2-F: e Tab. 1).

Dois fatores poderiam explicar este fenomeno: ou a liberação de mediadores quimicos em quantidade aumentada após o tetano, agindo demoradamente após, ou uma alteração que ocorra na propria fibra muscular em consequencia do trabalho intenso do tetano, — já que o recrutamento de fibras musculares indolentes não parece explicar o fenomeno, pois BROWN e EULER, 1938, não constataram elevação do potencial de ação do musculo; de fáto, havia mesmo diminuição de 10 p. cento nele.

Apreciando mais detalhadamente os nossos dados, apresentamos na Tabela 1 o comprimento médio das 10 contrações iniciais e finais de cada série de estimulações, tanto normal (antes do arsenito de sódio) como após a injeção dele. As contrações iniciais são medidas após pleno desenvolvimento do "Treppe", quando existente.

A média de 6 contrações prétetanica é comparada com a altura média das contrações imediatamente pós-tetanicas, em confronto com a altura do tetano.

Observe-se que as primeiras contrações pós-tetanicas, ainda que deprimidas pela média, são sempre mais elevadas do que a média das contrações prétetanicas, decaindo rapidamente para um nivel estavel e mais elevado do que previamente (Estampa 23: Fig. 1).

Em cada série a altura dos tétanos successivos se encontra disposta verticalmente, seguindo-se ao ultimo, na coluna pós-tetanica, o valor médio das contrações isoladas então obtidas.

A potenciação de contrações se expressa como porcentagem de aumento em milimetros, da média das contrações pós-tetanicas, sobre a média das contrações imediatamente pretetanicas iniciais da série.

A potenciação obtida no normal (sob uretana), varia de 45,6% a 176,4%, sobre os valores pretetanicos, enquanto sob arsenito verificamos valores como 13,9% (premortal) a 133,7%.

Na Estampa 23: Fig. 1-A: -B: -C: e Tab. 1 observa-se que após 3-4 estimulações tetanicas, intercaladas na série de estimulos isolados, nenhum sinal de fadiga se observa, aparecendo sempre uma forte potenciação das contrações, que em 1-A se desvanece em 2 minutos. Uma repetição de mais 4 estimulações tetanicas intercaladas sem intervalo de repouso, renóva o efeito de potenciação pós-tetanica.

Sob arsenito de sódio, 1,4 mg/kg verifica-se o desenvolvimento da potenciação na mesma ordem de grandeza que se observa no normal.

Na Estampa 23 as contrações isoladas mais elevadas, esporadicas, representam curtos tétanos, devidos a defeito do interruptor automatico, e que, pela brevidade, não chegam a alterar a marcha do fenomeno.

A Estampa 24 apresenta um exemplo de tendencia ao bloqueio das contrações musculares sob uretana etilica, acentuando-se em 2A na 3.ª serie de estimulações, portanto com mais de 25 minutos de duração, com dois periodos de repouso de 10 minutos cada, sendo evidente a quéda da força contratil, a par do bloqueio que se acentúa, emquanto a temperatura do animal cái a 35°C.

A este efeito da anestesia vem juntar-se a ação do arsenito de sódio — 2,4 mg/kg — provocando rapida decadencia da força muscular, emquanto as falhas de contração dadas pelo bloqueio se agravam de série para série (Estampa 24: Fig. 2-C-C' : -D-D' : -E-E'). O periodo de repouso entre cada serie — 10 minutos — permite uma recuperação parcial da força contrátil, sem alterar o desenvolvimento progressivo do bloqueio (Fig. 2-C: -D: -E). Na serie E-E' o descanso da alavanca em "after load" é aumentado, para assim se tentar diminuir o efeito de fadiga; nenhum beneficio se observou com isso, mas ficou mais acentuado o bloqueio; afasta-se assim a possibilidade de qualquer efeito de contratura muscular. De fáto só se verifica um certo gráu de contratura após o tétano (Fig. 2-F).

TABELA 1

AMPLITUDE DAS CONTRAÇÕES MUSCULARES PRÉ E PÓS-TETÂNICAS DA COBAIA AÇÃO DO ARSENITO DE SÓDIO EM VÁRIAS DOSAGENS

Estimulações		NORMAL — Amplitude média das contrações (mm)						Dose	Estimulações		ARSENITO DE SÓDIO — Amplitude média das contrações (mm)					
Série	Duração	Início	Fim	Pré-tet.	Tet.	Pós-tet.	%	mg./Kg.	Série	Duração	Início	Fim	Pré-tet.	Tet.	Pós-tet.	%
Cobaia 460 g. Uretana 500 mg. Carga 20 g.																
1.ª	10'48"	18,5	16,0					4,3	1.ª	30'	19,7	18-19				
Cobaia 500 g. (Fig. 3) Uretana 500 mg. Carga 50 g.																
1.ª	12'30"	22,0	22,0					8,0	1.ª	12'35"	(58-53) 30,0	1-2				
Cobaia 420 g. (Fig. 2) Uretana 500 mg. Carga 50 g.																
1.ª	10'20"	27,0	25,5					2,4	1.ª	10'	19,0	16,0				
2.ª	8,57"	23,0	24,1						2.ª	7'43"	18,0	11,0				
3.ª	8,21"	25,0	24,0						3.ª	8'30"	14,0	12,0	12,0	67,0		
														77,0		
														89,0		
														85,0		
														88,5	19,5	62
Cobaia 345 g. (Fig. 1) Uretana 450 mg. Carga 50 g.																
1.ª	10'00	27,0		24,0	94,0			1,4	1.ª	10'30"	11,0		12,2	81,0		
					94									83,0		
					94,0	42,9	78,7							87,5	27,2	125,0
				23,9	82,0								16,0	85,0		
					84,5									88,0		
					92,0	34,8	45,6							87,5	23,5	46,8

(*Continua*)

(Continuação)

Estimulações		NORMAL — Amplitude média das contrações (mm)						Dose	Estimulações		ARSENITO DE SÓDIO — Amplitude média das contrações (mm)					
Série	Duração	Início	Fim	Pré-tet	Tet.	Pós-tet.	%	mg./Kg.	Série	Duração	Início	Fim	Pré-tet.	Tet.	Pós-tet.	%
2.ª	10'00	11,0		10,9	84,0				2.ª	10'00	8,25		9,5	77,0		
					86,5									78,5		
					88,5	29,7	172,4							82,5	22,2	133,7
													15,5	80,0		
														83,5		
														83,5		
														86,0	20,5	32,3
Cobaia 485 g. Uretana . Carga 70 g.																
1.ª	7'00	8,7		8,5	86,0			1,3	1.ª	7'00	10,9		10,9	79,0		
					88,0									76,0		
					89,0	23,5	176,4							79,0	16,2	48,6
				8,0	82,0								7,5	78,0		
					84,0									78,0		
					86,0	16,5	106,2							79,0	9,0	13,9
2.ª	5'00	17,9		17,9	97,0	31,7	77,1									
				20,5	96,0	29,8	66,4									
				17,4	93,5	§										
				18,8	92,0	26,9	50,3									
3.ª	5'00	diária		11,0	87,5	21,0	90,9									
				18,8	87,5	22,6	105,4									
				15,0	88,5	24,5	122,7									
				15,1	88,2	21,2	101,9									
4.ª	5'00	9,1		9,1	84,0	19,7	116,5									
				13,1	83,0	21,8	139,6									
				§	82,0	§										
				§	77,5	§										

§ — Prejudicadas por defeito momentâneo do contacto automático.

Assimilando-se esta ação do arsenito de sódio á curarização leve, tentamos vence-la por tetanização faradica do musculo. Logo em seguida á serie E-E' são feitas 6 estimulações tetanicas de 10-12 segundos de duração, separadas por intervalos de 10-20 segundos; e mesmo após o 6.º tétano foi dado um intervalo de 6 segundos, na esperança de que a circulação conseguisse libertar o musculo de qualquer possivel excesso de mediadores quimicos porventura acumulado durante o tétano; verifica-se que apezar desses cuidados não só o ritmo de contrações se restaura quasi sem bloqueio, como a propria força contrátil se restaura em parte, elevando-se cerca de 60% sobre o nivel de força prétetanico (Tab. 1, e Estampa 24: Fig. 2-F).

Na Estampa 24: Fig. 3-A-A' procura-se evidenciar a grande resistência à fadiga deste tipo de preparação, sob anestesia bem tolerada, mantendo-se a força muscular quasi inalterada durante 12½ minutos de estimulação a 75 choques por minuto, emquanto os segmentos B, B', B" mostram o desenvolvimento da intoxicação aguda por 8 mg/kg de arsenito de sódio, endovenosamente.

Após o aumento inicial de irritabilidade e força muscular, (-B) cerca de 6 minutos após (-B') inicia-se a quéda de força, chegando á morte (-B") aos 17½ minutos após a injeção da droga.

Aos 5, 8, 11 minutos após o traçado anterior, são feitas 3 estimulações tetanicas de 2 seg., 2 seg. e 18 seg. de duração (Estampa 24: Fig. 3-C). Aqui a fadiga pelos tétanos aparece nitida pela quéda progressiva de força destes, descontraindo-se mesmo aos 11 segundos, emquanto a estimulação foi continuada até 18 segundos. A despeito da falta de circulação e da fadiga evidente da preparação, a potenciação das contrações após o segundo tétano é nitida, fazendo que as respostas aos três choques simples sejam comparaveis, em amplitude, às contrações iniciais (Estampa 24: Fig. 3-A).

De um modo geral se verifica que mesmo sob intoxicação intensa, ou ainda "post-mortem" a potenciação se observa nitida, num momento em que ELLIOTT e NORRIS, 1945, verificam ser o metabolismo muscular muito baixo, pela intoxicação arsenical e a drenagem (em vida) pela circulação, muito aumentada.

Estas potenciações, obtidas em graus variados de intoxicação, e portanto de depressão do metabolismo muscular, bem como as obtidas

"post mortem", parecem excluir qualquer ação circulatoria, neste fenomeno de potenciação pós-tetanica, o que corrobora nosso ponto de vista expresso em nota preliminar, PEREIRA, JR., 1946.

Na cobaia de 485 g. (Tab. 1) foram tambem utilizados tétanos de 5 segundos de duração, intercalados cada minuto, na série de estimulações a 75 estimulos por minuto, não sendo dado tempo a que se desvanecesse o efeito de potenciação obtido previamente.

Apezar da carga ser maior — 70 g — nenhum efeito atribuivel á fadiga se evidencia: a potenciação obtida após o primeiro tétano na primeira série é mesmo maior do que os que se obtêm por tétanos periodicos na mesma série.

Ressalta desse modo uma nitida diferença de comportamento quanto á rã, em que GUTTMAN, HORTON e WILBER, 1936, só verificam potenciação após fadiga muscular, emquanto na cobaia não conseguimos, por tétanos repetidos, aumentar a potenciação já conseguida antes de qualquer sinal de fadiga.

DISCUSSÃO

A atividade curarizante do arsenito de sódio, injetado por via endovenosa, na cobaia, é inseparavel de sua ação tóxica. A sensibilidade da cobaia, por outro lado, é variavel, como se verifica nos 3 ultimos animais (Tab. 1) sob 2,4 — 1,4 e 1,03 mg/kg de arsenito de sódio, morrendo esta ultima mais rapidamente do que as de dóses mais elevadas. Sómente com doses de 2,4 mg/kg (Estampa 24: Fig. 2) e 4,3 mg/kg como na cobaia de 460 g (Tab. 1) se consegue obter uma curarização parcial, em que sempre se deve ter em conta a ação da anestesia pela uretana.

Este bloqueio de parte das estimulações que vão ao musculo poderia ser explicado pelas observações de ELLIOTT e NORRIS, 1945, demonstrando, no rato intoxicado por arsenito de sódio, por via intraperitonal, que a queda de temperatura do animal está relacionada com a quéda do metabolismo celular, especialmente de musculos e rins, emquanto a respiração do cerebro permanece inalterada. Por outro lado, sendo o arsenito de sódio um veneno capilar, provóca, por ação diréta, vaso-dilatação dos pequenos vasos ao nivel dos tecidos.

Estas verificações excluem o sistema nervoso central como séde de ação do arsenito de sódio, localizando periféricamente sua ação.

A hipotermia, tão acentuada às vezes, seria produzida tanto por queda do metabolismo tissular, como pelo aumentado desperdicio calórico atravéz a rêde capilar atonica.

Este aumento de circulação capilar não altéra a intensidade e duração da potenciação muscular pós-tetanica, apezar da melhor drenagem de possiveis acumulos de mediadores, liberados em excesso pela tetanização.

A potenciação pós-tetanica já tinha sido observada por SCHIFF em 1858 e por HOFFMAN em 1904, cf. ROSENBLUETH e MORISON, 1937, aparentemente ao estudarem o musculo isolado da rã, como se depreende da analise de FÜHNER e KÜLZ, 1925. A potenciação se revéla, aqui, sómente após uma faze de depressão pós-tetanica, que é vencida progressivamente ao ser continuada a estimulação, ultrapassando o nivel inicial de força.

Mais recentemente GUTTMAN, HORTON e WILBER, 1936, no musculo gastrocnemio isolado da rã (*Rana pipiens*), confirmam este fenomeno de potenciação pós-tetanica, mas só na preparação fatigada, conjeturando que "It seems probable that some mediator is quantaly produced, in excess, at the myoneural junction during tetanus and remains to increase the contractions until it is gradually dissipated" (pg. 220). Nas suas condições de trabalho sempre o musculo entra em contratura após o tétano.

Na nossa preparação a circulação sanguinea é mantida sem interferencia, ou aumentada pelo arsenito, de maneira a tornar improvavel qualquer acumulo de mediador quimico liberado durante o tétano. Quanto à fadiga muscular como fator de potenciação, a tabela e graficos apresentados parecem afasta-la completamente.

Aliás é pouco compreensivel o modo pelo qual um musculo já fatigado, — i. é. incapaz de produzir mediadores quimicos, ou de responder aos mediadores normalmente liberados, — passaria a responder, depois do esforço estenuante da contração tetanica, de forma tão intensa e prolongada.

Para afastar o efeito de fadiga na potenciação por nós obtida, comparem-se na Tab. 1, na parte normal, a amplitude inicial, e final (ou prétetanica), em cada série de estimulações; aí se verifica que a força contrátil inicial e final na série não se modifica, ou só se modifica insignificantemente.

As condições dos animais experimentais são geralmente bôas, tanto que nestas séries normais, só no caso da cobaia de 345 g. se observou um "Treppe' — aumento progressivo e gradual da força de

contração numa série de estimulos isolados — ao passo que sob a ação do arsenito de sódio esse fenomeno inicial é constante e demóra sempre mais de 2 minutos até se estabilizar a força contrátil.

As Estampas 23 e 24: Fig. 1-B: -C: Fig. 2-F: mostram a potenciação, sob arsenito, em tempos variados após a injeção desta droga, sendo dado em 2-F, um intervalo de 8 seg. para melhor drenagem circulatoria, após o tétano: nem assim se consegue diminuir o fenomeno de potenciação pós-tetanica, apezar do bloqueio das excitações musculares progressivamente mais intenso que se vinha desenvolvendo, e que tambem foi anulado após o tétano.

Em trabalho posterior GUTTMAN, HORTON e WILBER, 1937, verificam que a restauração de força pós-tetanica dura, às vezes, cerca de um minuto, no gatrocnemio da rã isolado, quando a força muscular foi préviamente reduzida de 50% por fadiga, como si uma "...reserve energy on beeing released, desappears after tetanus as a function of time and is not used up by contraction as shown by the results of rest after tetanus" (pg. 469). Este trabalho se refére a energia de reserva liberada pelo tetano, atribuindo-a mais especificamente à adrenalina ou à acetilcolina. Dada a falta de potenciação pós-tetanica na preparação curarizada, esses autores localisam, na rã, a placa motora como lugar de potenciação.

Para ROSENBLUETH e MORISON, 1937, substancias quimicas liberadas pelo tetano seriam responsaveis pelos efeitos pós-tetanicos, quando afirmam: "...The assumption appears reasonable that all the post-tetanic effects, including the decurarization (p. 246), may be caused by a single substance, liberated or mobilized by the acethylcholine set free by the nerve impulses. (pg. 254).

BROWN e EULER, 1938, conseguem demonstrar, no gato, a existencia de potenciação pelo tétano, mesmo após curarização bem como após denervação previa do musculo. Afastam assim esses autores, no mamifero, a placa motora como lugar de potenciação. Favorecem a ação do potassio como fator, em parte, na produção da potenciação, coincidindo com o ponto de vista de FENG, LEE, MENG e WANG, 1938, enunciado quasi simultanea e independentemente.

O potassio, injetado na arteria do musculo, como o demonstram BROWN e EULER, 1938, produz um efeito de potenciação das contrações simples, acompanhada de depressão de cerca de 15% do potencial de demarcação muscular, muito mais fácil de ser obtido em

um musculo fásico como o tibial anterior, do que num musculo tônico como sejam o gastrocnemio e o solear. Contudo, a repetição da injeção de potassio póde provocar depressão irreversivel do tibial; não tanto do gastrocnemio e solear.

Os resultados a que chegamos comparados aos apresentados por GUTTMAN e cols., FENG e cols. bem como os de BROWN e col. permitem-nos fazer as seguintes considerações: no musculo isolado da rã, o fenomeno de potenciação pós-tetanica poderia ser evidenciado após o desenvolvimento de fadiga, emquanto nos mamiferos, com a circulação intacta, a potenciação é ampla e não ha evidência de fadiga, como se depreende da manutenção do nivel de contração em cada série e pelo alto nível de desenvolvimento da força sob estimulação tetanica.

Apezar destas melhores condições de trabalho quanto ao musculo, a potenciação sempre se obtem com duração que alcança vários minutos após o tetano, seja no periodo inicial, seja no de intoxicação pelo arsenito de sódio (Estampa 23: Fig. 1: Tab. I), o que afasta a fadiga como causa do fenomeno.

Ao exame dos nossos traçados é possivel admitir-se um duplo mecanismo para explicar a potenciação pós-tetanica das contrações musculares: a liberação de substancias quimicas de mediação neuro-muscular como responsável pelo grupo pequeno e rapidamente decrescente de contrações que se superpõem a um mecanismo mais estavel de potenciação; este perdura por muitos minutos, emquanto for mantida a estimulação isolada, e se desvanéce após repouso de 5 a 10 minutos.

A esta fase mais estavel e duradoura da potenciação, somos levados a atribuir uma base fisica, seja por distenção do conetivo e sarcolema, seja por alterações viscoso-elasticas da própria miofibrila. Este mecanismo fisico pós-tetanico seria da mesma natureza que o mecanismo que age na potenciação por estiramento simples da fibra muscular, como já haviamos revelado anteriormente, PEREIRA, JR., 1946, e procuraremos detalhar em outras publicações.

Na Estampa 23 Fig. 1-C, após os três tétanos iniciais sob intoxicação avançada por arsenito, observa-se que outros tétanos já não repetem as contrações pós-tetanicas rapidamente decrescentes, porem que as contrações são estabilizadas por tétanos de várias durações em

nivel mantido, o que afasta a possibilidade de substancias, tão facilmente destrutiveis como a acetilcolina ou a adrenalina, estarem atuando acumuladas, tanto mais que o aumento de circulação capilar deveria impedir essa circunstancia. Alem disso é aqui pertinente lembrar que o acumulo de acetilcolina junto à fibra muscular, longe de potenciar o estimulo, antes o deprime cf. ECCLES, 1936.

O acumulo de potassio junto à fibra muscular póde produzir depressão irreversivel da contratilidade muscular, BROWN e EULER, 1938. Ainda mais, quanto à ação deste elemento na contração muscular, devemos lembrar as próprias palavras de FENG e cols., 1938, quando escrevem: "However when one remembers that the release of potassium is in all probability a consequence of excessive stimulation..." pg. 105, o interesse pelo potassio como mediador quimico "fisiologico" desaparece completamente.

No tocante á contração muscular, o papel do potassio vem-se restringindo progressivamente, sendo pertinente lembrar as verificações de MILLER e DARROW, 1940, no rato, sob varias formas de depleção potassica, como sejam; a adrenalectomia total, a depleção por drenagem peritoneal, a diéta insuficiente em potassio bem como a adrenalectomia associada à diéta pobre em potássio. Nestas condições, conseguem esses pesquizadores fazer variar entre amplos limites o teor de potassio do plasma e do musculo, sem de módo algum ser estabelecida uma relação entre a força muscular e esse cátion.

Afastadas as possibilidades de acumulos de mediadores quimicos como causa unica deste fenomeno, uma base fisica se destaca.

Neste ponto o arsenito de sódio, por sua tóxidez sobre o musculo e sobre os capilares, se revéla um instrumento particularmente util ao estudo da potenciação pós-tetanica; e permite a dissociação da potenciação fugaz, de natureza quimica, da potenciação mais sustentada, de natureza fisica, já distinguida por nós anteriormente.

RESUMO

O musculo gastrocnemio (e solear) da cobaia anestesiada por uretana etilica, estimulado diretamente "in situ", póde responder isotonicamente, quasi sem fadiga, tanto normal como sob dóses de arsenito de sódio abaixo de 4 mg/kg, endovenosamente.

A solução de arsenito de sódio provóca bloqueio das contrações musculares em dóses entre 2,4 e 4,3 mg/kg, mas sempre tende a provocar hipotermia.

Lógo após a injeção de arsenito e durante praso tanto menor, quanto maior a dóse, a força muscular fica nitidamente exaltada, para decair com o progredir da intoxicação.

A potenciação pós-tetanica das contrações simples não parece depender, na cobaia, do estado de fadiga do musculo, nem do acumulo de mediadores quimicos, que a bôa drenagem sanguinea, ainda ampliada pelo arsenito, torna muito pouco provavel.

A potenciação pós-tetanica varia de um minimo de 45,6 a 176,4%, nas séries de excitações normais; e de 13,9 (em fase pré-mortal) a 133,7% sob arsenito de sódio.

Após o tétano, as primeiras contrações decaem rapidamente por varios minutos, para um nivel estavel e sempre mais elevado que a força pré-tetanica.

A primeira fase poderia estar ligada à liberação de mediadores quimicos; mas a segunda fase, mais estavel atribuimo-la a um mecanismo fisico, após discussão da influencia atribuida na literatura, aos mediadores quimicos, tanto ionicos quanto organicos.

POSTTETANIC POTENTIATION OF MUSCULAR CONTRACTION IN THE GUINEA PIG UNDER SODIUM ARSENITE

Abstract

The gastrocnemius-soleus muscles of adult, male guinea pigs with intact circulation, under ethyl urethane, can be made to respond to single direct, sub-maximal stimuli, at 75-90 p. minute and the isotonic contractions under 20 to 70 Gm. loads, in after load, without any evidence of fatigue, unless the animal is too heavily anesthesized.

The solution of sodium arsenite as injected intravenously, intended to act as a curarizing agent, has revealed itself a poor one, but owing to the properties of muscular metabolism depression and beeing a toxic to the capillary wall, cf. ELLIOTT *and* NORRIS, *1945, it has been developed as a useful pharmacological tool for the study of the after-tetanic potentiation of muscular contraction.*

Under arsenite, the muscular stimulation tends to be blocked under dosis of 2.4 and 4.3 mgm/kg but only partially, this effect beeing hardly separated from the toxic effects of the drug and of the anesthetic. Even in the artificially warmed animal it is not easy to counteract the tendency to hypothermia.

After the administration of sodium arsenite, there is an increase of muscular strength, in response to the stimulations (Plate 23 Fig. 1-B: Plate 24 Fig. 3B: Tabl. 1), but vanishing itself so much more rapidly as the dosis increases and the intoxication progresses.

In the guinea pig the twitch potentiation after tetanus does not seems to be dependent either on the fatigue of the preparation or the accumulation of acethylcholine, GUTTMAN, HORTON *and* WILBER, *1936, 1937, or of potassium (at least in part),* ROSENBLUETH *and* MORISON, *1937,* FENG, LEE, MENG *and* WANG, *1938,* BROWN *and* EULER, *1938. It seems really a hard task to try the explanation of such a lasting phenomenum like the after tetanic potentiation in muscle, through the liberation of such a rapidly vanishing substances as acethylcholine or adrenine or the action of a freely movable ion like potassium. Even under the action of sodium arsenite intoxication the potentiation is clearly elicited after tetanus, when the metabolic depression in muscle is probably associated with a richer capillary circulation (Plate 23: Figs. 1B: -C: Plate 24: 2-F: and Tab. 1).*

After a tetanus the potentiated muscular contractions decline rapidly for a while, attaining a sustained level of force inasmuch the rythmic stimulations are maintained. After a rest of usually 10 minutes between each series of stimulations the potentiation desappears, only to be renewed in every series after a tetanus.

The vanishing heigth of the few post-tetanic twitches whose force soon attain a steady level, is apparently depressed after the progression of the arsenite intoxication (Plate 23: 1-C) leading us to dissociate again the after tetanus potentiation in an initial chemical phase superimposed in a more lasting physical one as we have been able already to describe, PEREIRA, JR., *1946, after graded stretching of the guinea pig's gastrocnemius "in situ".*

BIBLIOGRAFIA

BOYD, T. E. — 1932 — Recovery of the tongue from curare paralysis, following prolonged stimulation of the hypoglossal nerve. *Am. J. Physiol.*, **100**; 569-575.

BROWN, G. L. e U. S. von EULER — 1938 — The after effects of a tetanus on mammalian muscle. *J. Physiol.*, **93**; 39-60.

DENNY-BROWN, D. E. — 1929 — The hystological features of striped muscle in relation to its function. *Proc. Roy. Soc., Ser. B*, **104**; 371-411.

ECCLES, J. C. — 1936 — Synaptic and neuro-muscular transmission. *Ergebn. der Physiol.*, **38**; 339-444.

ELLIOTT, H. W. e E. R. NORRIS — 1945 — In vitro and in vivo studies of the effect of arsenite on the respiration of rat tissue. *Am. J. Physiol.*, **143**; 639-643.

FENG, T. P., L. Y. LEE, C. W. MENG, e S. C. WANG — 1938 — Studies on neuromuscular junction. IX. The after effects of tetanization on N. M. transmission in cat. *Chin. J. Physiol.*, **13**; 79-108.

FÜHNER, H. e F. KÜLZ — 1925 — Nerv und Muskel. "In" A. BETHE e cols. Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie. 8, 1.ª parte; 306. Julius Springer. Berlim.

GUTTMANN, S. A., R. G. HORTON, D. T. WILBER — 1936 — Enhancement of muscle contraction after tetanus. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **34**; 219-221.

GUTTMAN, S. A., R. G. HORTON, D. T. WILBER — 1937 — Enhancement of muscle contraction after tetanus. *Am. J. Physiol.*, **119**; 463-473.

HEFFTER, A., E. KELSER — 1927 — Arsen und seine Verbindungen. "In A. HEFFTER Handbuch der experimentellen Pharmakologie. **3º/1**; 477. Julius Springer. Berlim.

MILLER, H. C., e D. C. DARROW — 1940 — The effect of change in muscle electrolyte on the response of skeletal muscle to tetanic stimulation with particular reference to potassium. *Am. J. Physiol.*, **129**; 264-270.

PEREIRA, JR., J. — 1946 — After stretch potentiation of muscular contraction in mammals (Preliminary report). *Rev. Brasil. Biol.*, **6**; 255-258.

PETTIT, A. — 1913 — Procédé simple pour prélever le sang chez les petits rongeurs. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, **74**; 11-12.

ROSENBLUETH, A. e R. L. MORISON — 1937 — Curarization, fatigue, and Wedenski inhibition. *Am. J. Physiol.*, **119**; 236-256.

AÇÃO DO ARSENITO DE SÓDIO EM VÁRIAS DOSAGENS

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 23

Miograma isotonico de gastrocnemio-solear "in situ". Cobaia de 345 g. Ampliação da alavanca: 26 vezes.
Uretana intra-peritoneal: 450 mg. Temperatura retal: 34° C.

Fig. 1-A. Mostra a infatigabilidade da preparação muscular sob 90 estimulos dirétos por minuto, mesmo intercalando-se 3 e 4 tetanizações de 5 segundos de duração. Ao em vez de fadiga, obtem-se potenciação da força contratil a 172,4% sobre o nivel prétetanico. Notar que as primeiras contrações pós-tetanicas diminuem rapidamente de força (fase quimica), estabilizando-se em nivel mais elevado que antes do tetano (fase fisica da potenciação muscular).

Fig. 1-B. Após 1,4 mg./kg. de arsenito de sódio, a força de contração aos estimulos isolados é aumentada ligeiramente. Nitida potenciação da força contratil após tetanização muscular, a 125% do nivel prétetanico.

Fig. 1-C. Miograma da 2.ª série de estimulações musculares, 30 minutos após a injeção de arsenito de sódio. Animal em edema pulmonar, com temperatura de 33° C. Apezar da quéda nitida da força muscular aos estimulos isolados obtem-se ainda fenomeno de potenciação da força contratil de 133,7%, mantida (fase fisica da potenciação) apezar das más condições da cobaia.

Estampa 24

Miograma isotonico de gastrocnemio-solear "in situ". Cobaias sob anestesia de uretana.

Figs. 2-A: -B Cobaias de 420 g. Uretana, 500mg. Inicio da 1.ª série de estimulações e fim da 3.ª série de estimulações isoladas, mostrando a tendencia ao bloqueio dos estimulos musculares já sob uretana, em 3 séries de estimulações.

Figs. 2-C: -C': -D: -D': E: -E'. Decadencia da força muscular sob 2,4 mg/kg. de arsenito de sódio, ao par de aumento do bloqueio dos estimulos isolados, em 3 séries de estimulações.

Fig. 2-F. Efeito de estimulações tetanicas repetidas (só a ultima aparece) após bloqueio bem estabelecido no musculo: desaparece o bloqueio alem de se restaurar a força muscular a 62% do nivel prétetanico.

Fig. 3. Cobaia de 500 g. Uretana 500 mg./kg. Arsenito de sodio 8 mg./kg.

Figs. 3-A: -A'. "Treppe" inicial em -A, estabilizando-se rapidamente o nivel de contrações musculares, durante os 12 ½ minutos de estimulações.

Figs. 3-B: -B': -B". Inicio, meio e final da série de estimulações isoladas musculares, na cobaia sob 8 mg./kg. de arsenito de sódio, evidenciando diminuição de força muscular sem bloqueio.

Fig. 3-C. Efeito "post-mortem" de 3 estimulações tetanicas, revelando ainda potenciação das estimulações musculares isoladas, após o 2.º tetano.

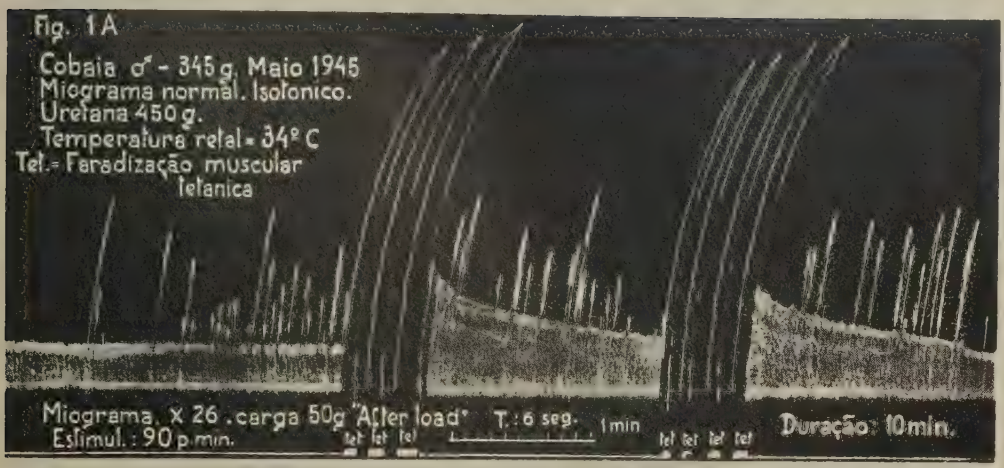


Fig. 1A
Cobaia ♂ - 345 g. Maio 1945
Miograma normal. Isotonico.
Uretana 450 g.
Temperatura retal = 34° C
Tet.= Faradização muscular
tetanica
Miograma. x 26 . carga 50g "After load"
Estimul.: 90 p.min.
T.: 6 seg.
1 min
Duração: 10 min.

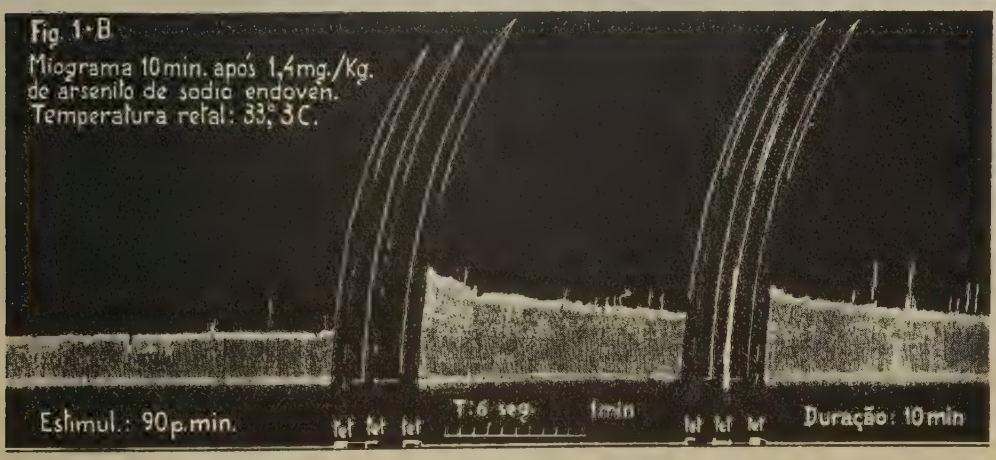


Fig. 1-B
Miograma 10 min. após 1,4 mg./Kg.
de arsenito de sodio endoven.
Temperatura retal: 33°,3 C.
Estimul.: 90 p.min.
T.: 6 seg.
1 min
Duração: 10 min

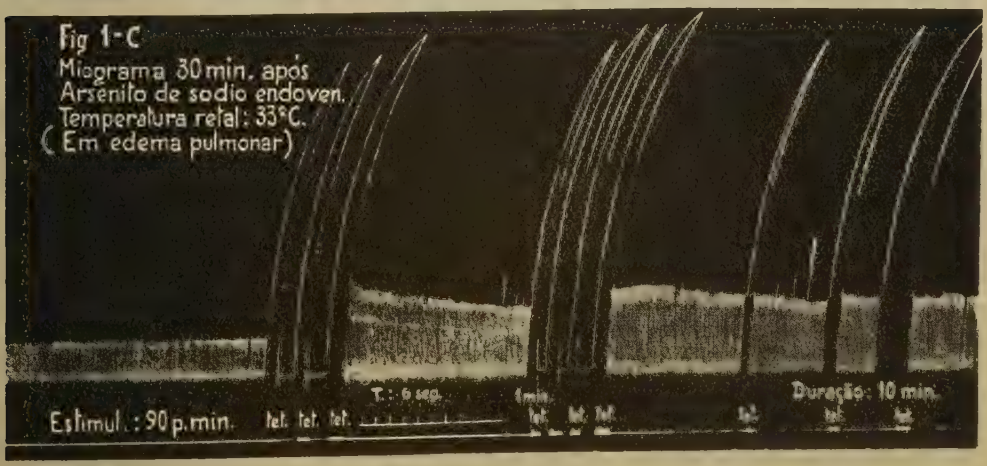


Fig 1-C
Miograma 30 min. após
Arsenito de sodio endoven.
Temperatura retal: 33°C.
(Em edema pulmonar)
Estimul.: 90 p.min.
T.: 6 seg.
1 min
Duração: 10 min.

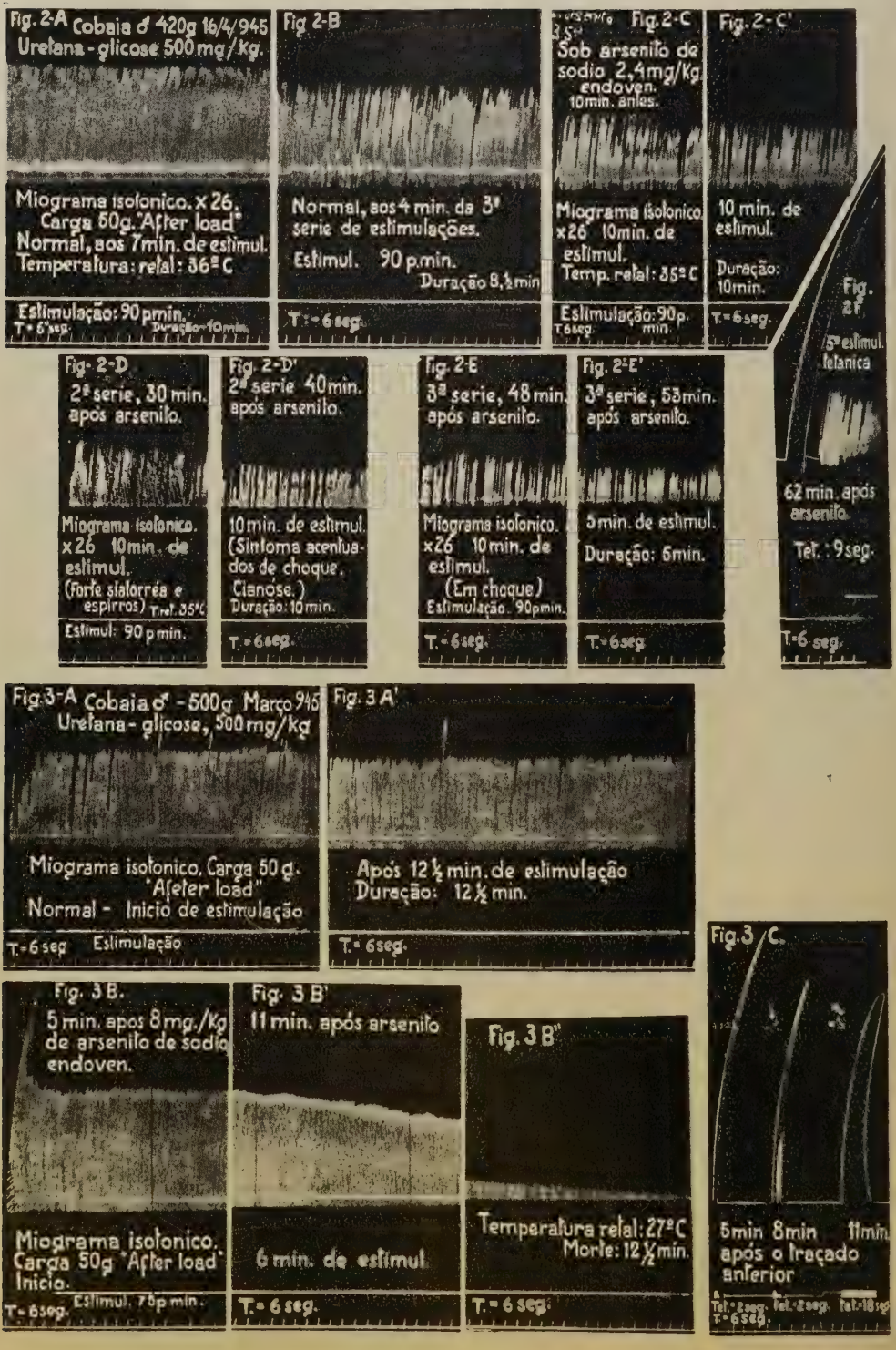


Fig. 2-A Cobaia ♂ 420g 16/4/945
Uretana - glicose 500 mg/kg.
Miograma isolonico. x 26.
Carga 50g. "After load"
Normal, aos 7 min. de estimul.
Temperatura: retal: 36ºC
Estimulação: 90 p.min.
Duração 10 min.
T = 6 seg.
Fig 2-B
Normal, aos 4 min. da 3ª serie de estimulações.
Estimul. 90 p.min.
Duração 8,½ min
T = 6 seg.
Fig. 2-C
Sob arsenito de sodio 2,4 mg/kg endoven.
10 min. antes.
Miograma isolonico x26 10 min. de estimul.
Temp. retal: 35ºC
Estimulação: 90 p. min.
T = 6 seg.
Fig. 2-C'
10 min. de estimul.
Duração: 10 min.
T = 6 seg.
Fig. 2-D
2ª serie, 30 min. após arsenito.
Miograma isolonico. x26 10 min. de estimul.
(Forte sialorréa e espirros) T. ret. 35ºC
Estimul: 90 p min.
Fig. 2-D'
2ª serie 40 min. após arsenito.
10 min. de estimul.
(Sintoma acentuados de choque. Cianose.)
Duração: 10 min.
T = 6 seg.
Fig. 2-E
3ª serie, 48 min. após arsenito.
Miograma isolonico. x26 10 min. de estimul.
(Em choque)
Estimulação. 90 p min.
T = 6 seg.
Fig. 2-E'
3ª serie, 53 min. após arsenito.
5 min. de estimul.
Duração: 6 min.
T = 6 seg
Fig. 2 F
5ª estimul. tetanica
62 min. após arsenito.
Tet.: 9 seg.
T = 6 seg.
Fig. 3-A Cobaia ♂ - 500 g Março 945
Uretana - glicose, 500 mg/kg
Miograma isolonico. Carga 50 g.
"After load"
Normal - Inicio de estimulação
T = 6 seg Estimulação
Fig. 3 A'
Após 12 ½ min. de estimulação
Duração: 12 ½ min.
T = 6 seg.
Fig. 3 B.
5 min. após 8 mg./Kg de arsenito de sodio endoven.
Miograma isolonico.
Carga 50 g "After load"
Inicio.
T = 6 seg. Estimul. 75 p min.
Fig. 3 B'
11 min. após arsenito
6 min. de estimul.
T = 6 seg.
Fig. 3 B"
Temperatura retal: 27ºC
Morte: 12 ½ min.
T = 6 seg.
Fig. 3 C.
5 min 8 min 11 min
após o traçado anterior
Tet.: 2 seg. Tet.: 2 seg. Tet.: 18 seg.
T = 6 seg.

O CONTRÔLE DA FERRUGEM DA GOIABEIRA POR MEIO DE PULVERIZAÇÕES

POR

Anderson C. Andrade

Do Instituto Biológico de São Paulo

Com 3 figuras no texto

A goiaba, fruta originária dos tropicos americanos, tem grande número de aplicações na culinária domestica, destacando-se as afamadas goiabadas, as quais atualmente se encontram industrializadas por processos modernos.

Devido ao crescente interesse pela fruta, que até recentemente tinha sua fonte natural nos campos, já se cuida da sua exploração racional, em pomares que forneçam tipos de frutas selecionadas.

Acreditamos que essa nova fonte de riqueza venha a encontrar, numa doença denominada ferrugem, causada pelo fungo *Puccinia psidii* WINTER, um dos empecilhos ao seu desenvolvimento. Com o fim de contrôlar os danos causados pela ferrugem, procedemos a uma série de experiências de pulverização, a partir de 1943, cujos resultados demonstram ser perfeitamente possivel obter pomares de goiabeiras relativamente livres dos prejuizos da ferrugem.

As experiências foram efetuadas no goiabal da Fazenda Experimental "Mato Dentro", Campinas, compreendendo 250 plantas. As goiabeiras apresentam, em geral, bom aspecto, tendo atualmente cêrca de dez anos. O plano de tratamentos pre-estabelecido compreendia duas épocas de aplicação: um grupo de arvores recebia o tratamento sòmente no verão, e outro era, além disso, pulverizado também com os mesmos fungicidas no inverno. Devido às diversas modificações efetuadas no planejamento, durante sua execução, apresentaremos os resultados referentes a cada ano agrícola (1).

EXPERIÊNCIA DE 1943-44

Pelas caracteristicas das plantas, que apresentavam diferentes portes, constatámos a possibilidade de serem constituidas por mais de uma variedade. No entanto, neste primeiro ano, resolvemos distribuir os tratamentos por todo o pomar.

(1) Apresento agradecimentos ao Dr. A. A. Bitancourt pelas sugestões e criticas que ofereceu ao texto do presente trabalho.

O goiabal foi dividido em quatro faixas, no sentido do maior comprimento. Dentro de cada faixa, que constituia um bloco, foram distribuidos ao acaso 13 tratamentos, cada um dos quais aplicado a 3 árvores, dispostas em forma de L. Cada bloco, portanto, era constituido por 39 goiabeiras e no total foram utilizadas 156 plantas. Para tornar mais homogenea a distribuição do inóculo da doença no campo, foram deixadas goiabeiras sem tratamento. Essas foram distribuidas de modo que sempre houvesse uma fonte do inóculo no centro de oito plantas experimentais. Essa disposição pode ser mais facilmente apreendida na figura I, que representa uma planta do goiabal.

Fig. 1 — Mapa geral do goiabal experimental da Fazenda "Mato Dentro" Campinas.

Os fungicidas aplicados, e aqui caracterizados por uma letra, foram os seguintes: B — calda bordalêsa a 1%; C — calda sulfocálcica (32° Baumé) a 1:50; D — Enxofre molhavel magnetico a 1%; E — calda cuprosa a 1%, F — polvilhamento S: Cal, 1:2; a testemunha foi designada por A.

Os tratamentos de inverno foram designados pela letra que caracteriza o fungicida, assinalada por um apostrofe.

No primeiro ano, como iniciamos tardiamente a execução do plano, só foram aplicados os tratamentos de verão.

A calda cuprosa foi preparada segundo o método descrito por RALEIGH (1933) e BLACKFORD (1943). Na sua obtenção entram os seguintes elementos com as suas respectivas dosagens:

Solução A: sulfato de cobre — 1000 gramas; melaço — 1.500 litros; água 6 litros.

Solução B: soda caustica — 825 gramas e água 2.500 litros.

Prepara-se em primeiro lugar a solução A, o que consiste em dissolver o sulfato de cobre em água. Pronta esta solução, adiciona-se o melaço, agitando-se a mistura, que adquire uma coloração esverdeada. Em seguida dissolve-se a soda caustica, cuja solução é adicionada lentamente à solução A, com agitação constante, obtendo-se inicialmente uma coloração verde garrafa; o liquido torna-se muito denso, sendo agitado com dificuldade. Continua-se a acrescentar a solução B, o que liquefaz a massa pastosa, a principio verde clara, mas logo adquirindo uma côr verde amarelada, o que indica o fim da operação. Num recipiente de madeira deixa-se o precipitado assim constituido descansar por um mês, obtendo-se assim um liquido amarelo, côr de ouro, pronto para ser empregado, na diluição desejada. Em nossas experiências empregamo-la na mesma dosagem do cobre existente na calda bordalêsa, isto é, 10 litros de solução estoque, para fazer 100 litros de calda.

O polvilhamento de enxofre e cal era preparado com flor de enxofre ventilado e hidroxido de calcio, que se apresentava como um pó muito fino.

Além desses tratamentos, também adubações ricas e pobres em nitrogênio foram empregadas, para verificar si a esse elemento seria imputavel a intensificação do ataque pela ferrugem.

A adubação pobre em nitrogênio era constituida por cêrca de 40 gr. de nitrogênio contidos na torta de algodão por quilo da mistura; e a rica, cinco vezes essa quantidade, contidos no salitre do Chile e farinha de sangue. As formulas empregadas foram as seguintes:

G — Adubação pobre em nitrogênio: farinha de ossos — 2 quilos; torta de algodão — 1 quilo; e cinza de café — 1 quilo.

G' — Adubação rica em nitrogênio: farinha de ossos — 2 quilos; salitre do Chile — 500 gramas; farinha de sangue — 1 quilo; e sulfato de potassio — 200 gramas.

As adubações foram aplicadas em novembro, em meia lua, na dosagem de dois quilos de mistura por planta.

As pulverizações eram aplicadas por meio de aparelho de costas marca Holder. Gastaram-se em media quatro litros de calda por planta, o que permitia um bom revestimento da goiabeira com o fungicida.

Antes do inicio do primeiro tratamento, em 30-11-43, procedemos a um levantamento do grau de infecção inicial do goiabal pela ferrugem. O criterio adotado para determinar a porcentagem de infecção foi o seguinte: contavam-se, nos pontos cardeais, as cinco fôlhas apicais de um ramo, situado à altura de cêrca de um metro do solo. As fôlhas eram classificadas em quatro grupos de acôrdo com o número de lesões que apresentassem. As do primeiro grupo não apresentavam lesão, e recebiam nota zero; as do 2.º grupo, nota 1, com 1 a 5 lesões; as do 3.º grupo nota 2, com 6 a 10 lesões; e finalmente as do 4.º grupo nota 3, com mais de 10 lesões por fôlha. Em seguida foi somado o número de fôlhas existente em cada um dos grupos e multiplicado pela respectiva nota. A infecção total é obtida pela soma dos produtos acima indicados dividido pelo número de fôlhas examinadas multiplicadas pela nota máxima. Para se calcular a porcentagem basta multiplicar o quociente por cem.

Si chamarmos n_0, n_1, n_2 e n_3 o numero de fôlhas dos quatro grupos com as notas respectivas de 0, 1, 2 e 3, e sendo N a soma total das fôlhas examinadas, a infecção é representada pela formula:

$$\% \text{ infecção} = \frac{100\ (n_1 + 2n_2 + 3n_3)}{3N}$$

As pulverizações foram iniciadas em 1-12-43 e repetidas quinzenalmente até 17-2-44, quando foram encerradas. Ao efetuarmos o primeiro tratamento observamos que a maioria das petalas já haviam caido e notamos uma grande infecção no receptaculo floral, indicando a conveniência de ser o tratamento iniciado mais cedo.

Em 15-3-44 procedemos a um novo levantamento do grau de infecção, adotando o criterio descrito e cujo protocolo indicou a infecção e o contrôle da ferrugem obtido com as pulverizações.

Durante o periodo de maturação dos frutos, identificamos as goiabeiras, pelo sabor e coloração dos frutos, como "doce" e "azêda", assim como "branca" e "vermelha".

Na tabela 1 apresentamos a porcentagem media da infecção inicial e final para as goiabeiras já classificadas em doce e azêda, quanto á coloração da polpa e de acôrdo com o tratamento aplicado.

TABELA 1

Porcentagem média da infecção de ferrugem nas fôlhas de goiabeira referentes ao ataque inicial (i) e final (f) em diferentes variedades e tratamentos.

Variedades	TRATAMENTOS a)															
	A		B		C		D		E		F		G		G'	
	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f	i	f
Doce branca . .	3,9	52,5	9,9	29,1	1,4	47,3	5,5	39,2	8,3	38,7	7,5	34,4	4,4	59,9	4,6	47,6
" vermelha .	2,9	57,7	3,5	29,2	5,4	47,9	6,3	43,2	6,9	33,0	7,7	44,8	—	—	0	58,3
Azêda branca . .	1,0	5,8	1,0	3,5	0,2	4,6	1,3	5,4	0,7	5,6	0,1	4,4	0	7,5	2,5	9,2

a) A — Testemunha sem tratamento; B — Calda Bordalêsa 1%; C — Calda sulfocálcica 1:50; D — Enxofre molhavel 1%; E — Calda cuprosa 1%; F — Polvilhamento S:Cal, 1:2; G — Adubação pobre em N e G' — Adubação rica em N.

O principal resultado obtido foi o reconhecimento de uma diferente suscetibilidade à ferrugem entre as goiabas doce e azêda para a raça de *Puccinia* existente em Campinas. Quando efetuamos os levantamentos da infecção observamos que certo tipo de goiabeira apresentava nas fôlhas uma lesão minuscula, que não se desenvolvia e se caracterizava por uma reduzida quantidade do pó amarelo constituido pelos uredosporos. Da tabela 1 conclue-se também a nenhuma diferença entre a suscetibilidade das goiabas doces, branca e vermelha. Esta distribuição irregular das variedades dentro do pomar impediu o aproveitamento dos dados para uma analise estatistica.

Um exame sumário dos resultados nas variedades doces, com relação ao efeito dos tratamentos, evidencia o bom controle obtido com as pulverizações com calda bordalêsa a 1%, seguida pela calda cuprosa; em nivel inferior encontram-se o polvilhamento com S: Cal, enxofre molhavel e calda sulfocálcica. Observamos também que a cuprosa provocou danos nas fôlhas e frutos.

Os resultados não indicaram nenhum efeito da adubação, rica ou pobre em nitrogênio, no grau de infecção, pois este se manteve no mesmo nivel que o da testemunha.

A carga de frutos existentes era muito reduzida e distribuida irregularmente entre as goiabeiras, com um ataque medio de ferrugem.

Levando em conta êsses resultados, resolvemos realizar uma reforma no goiabal, que consistiu em sôbre-enxertar as goiabeiras azêdas com borbulhas de goiaba doce.

EXPERIÊNCIA DE 1944-45

Neste plano, apenas foram aproveitadas as goiabeiras doces, vermelha e branca, que se encontram agrupadas nas cinco primeiras fileiras junto à estrada principal, com 16 plantas cada uma, e outro grupo, na outra extremidade do campo, com 53 árvores.

O goiabal foi dividido em seis faixas, que constituiam os respectivos blocos. Dentro de cada um eram distribuidos os 13 tratamentos. Este plano distinguia-se do anterior, em que cada repetição, num total de seis, reduziu-se a uma planta. Conservaram-se, como fontes de inóculo no goiabal, as plantas sem tratamento, cercadas por oito goiabeiras empregadas no ensaio.

Os tratamentos compreendiam duas épocas de aplicação: a de inverno e a de verão. O tratamento de inverno era aplicado na metade das plantas e tinha por fim erradicar os focos do parasita. Depois do inicio da brotação era executada a pulverização de verão, que abrangia tôdas as árvores. Os fungicidas foram os mesmos usados anteriormente. Consideramos o efeito das adubações ricas e pobres em nitrogênio, as quais foram aplicadas em 18-7-44. Nessa mesma data também procedemos a nova etiquetagem das goiabeiras, de acôrdo com a distribuição dos tratamentos.

Em 27-7 foi executada a pulverização de inverno. Os tratamentos de verão tiveram inicio em 30-8, e foram executados quinzenalmente até 30-11-45.

O ataque da ferrugem que se manifestou no pomar foi muito fraco e sòmente em fevereiro pôde ser apreciado nas testemunhas e fontes de inóculo, o que prejudicou as nossas observações.

Acreditamos que o principal fator dessa fraca infecção foi a prolongada estiagem no inverno de 1944, que reduziu o inoculo potencial. Este é um dos fatos em que se apoia nossa ideia do valor do tratamento de inverno. Para verificar a resistência da goiabeira ao desfolhamento completo, no inverno de 1944, despimos mecanicamente uma árvore de tôdas as suas fôlhas. Observamos depois uma vigorosa brotação, acompanhada de uma carga pesada de goiabas, um pouco mais tardia.

EXPERIÊNCIA DE 1945-46

As pulverizações foram efetuadas em prosseguimento ao plano anteriormente adotado em 1944-45.

Os tratamentos de inverno e adubações rica e pobre em nitrogênio foram efetuados em 10-8-45 quando já se manifestavam sinais de infecção no goiabal. Os tratamentos de verão foram iniciados em 29-9-45, e executados quinzenalmente até 28-2-46.

Em 27-12-45 levantamos o grau de infecção da folhagem, segundo o criterio adotado anteriormente.

A colheita foi iniciada em 27-2-46, sendo efetuada à medida que os frutos amadureciam. Para cada árvore do ensaio eram contadas e pesadas as goiabas sadias e as que apresentavam sintomas de ataque pela ferrugem.

Apresentamos na tabela 2 a porcentagem de infecção da fôlhagem pela ferrugem.

A tabela 2 revela, de um modo geral, que o grau de infecção nas diferentes repetições é bastante irregular. Verifica-se também que não havia um ataque pesado da ferrugem, no pomar. Por outro lado, podia-se observar uma brotação desigual das goiabeiras; e comparando-se o grau de brotação com a infecção, constatamos que as plantas com maior brotação eram mais severamente atacadas pela ferrugem. Novamente os resultados indicam que a calda bordalêsa ofereceu melhor proteção da folhagem, a qual foi mais acentuada com a aplicação dos tratamentos de inverno. Os outros fungicidas não se destacaram no contrôle da ferrugem, obtendo-se sempre melhores resultados com o tratamento de inverno. Não se faz sentir nas goiabeiras adubadas com nitrogênio, diferença significativa de infecção quando comparadas com a testemunha.

TABELA 2

Porcentagem de infecção da ferrugem em fôlhas de goiabeira em 27-12-45.

Tratamento	Letra	Época da aplicação (a)	Repetição						Infecção média
			1.ª	2.ª	3.ª	4.ª	5.ª	6.ª	
Testemunha	A		53	55	30	41	70	84	55,5
C. bordalêsa	B	V	18	60	16	25	12	20	25,1
C. bordalêsa	B'	I — V	51	40	6	9	8	10	20,6
C. sulfocálcica	C	V	45	82	11	61	60	30	48,1
C. sulfocálcica	C'	I — V	38	85	40	55	20	32	45,0
Enxôfre molhavel	D	V	62	63	53	30	28	66	50,3
Enxôfre molhavel	D'	I — V	18	41	46	32	34	32	33,8
C. Cuprosa	E	V	60	76	63	75	70	16	60,0
C. Cuprosa	E'	I — V	11	30	31	32	22	19	24,1
Polvilhamento S:Cal	F	V	68	61	50	20	43	45	47,8
Polvilhamento S:Cal	F'	I — V	55	28	11	31	35	41	33,5
Adubação pobre N	G	—	62	63	55	53	73	61	61,1
Adubação rica N	G'	—	30	48	45	48	55	35	43,5

(a) I — Inverno: V — Verão.

O efeito dos tratamentos é representado mais objetivamente pelos dados da colheita efetuada árvore por árvore, anotando-se o numero e peso dos frutos doentes e sadios, cujos totais apresentamos na tabela 3.

Os resultados demonstram a grande eficiência da calda bordalêsa seguida pela calda cuprosa. A calda sulfocálcica, o enxôfre molhavel e o polvilhamento com S: Cal foram completamente ineficientes no contrôle da ferrugem. Com relação à época de aplicação verifica-se que para os melhores fungicidas como a calda bordalêsa e a calda cuprosa, o tratamento de inverno deu bons resultados, o que no entanto, não ocorreu com os fungicidas à base de enxôfre, indicando que o fator principal reside no fungicida adequado.

Comparando-se as infecções apresentadas nas tabelas 2 e 3, verifica-se que há paralelismo entre o comportamento dos fungicidas na proteção das fôlhas e das frutas.

Os resultados não evidenciaram aumento de infecção devido à adubação rica em azoto.

TABELA 3

Resultado total da colheita em 1945-1946.

Tratamento	Letra	Época (a)	Frutos doentes		Frutos sadios		% media do n.º frutos doentes
			N.º	Peso gr.	N.º	Peso gr.	
C. bordalêsa	B	V	377	23.370	1.641	65.020	27,0
C. bordalêsa	B'	I-V	167	8.500	1.035	33.060	13,3
Total			544	31.870	2.676	98.080	20,1
C. sulfocálcica . . .	C	V	475	30.990	630	26.480	46,2
C. sulfocálcica . . .	C'	I-V	517	46.200	241	17.000	60,5
Total			992	77.190	871	43.480	53,3
Enx. molhavel . . .	D	V	1.063	50.650	808	26.770	61,1
Enx. molhavel . . .	D'	I-V	478	20.685	996	36.330	48,0
Total			1.541	71.335	1.804	63.100	54,5
C. cuprosa	E	V	590	24.090	1.022	61.860	38,4
C. cuprosa	E'	I-V	224	15.750	1.054	50.300	27,9
Total			814	39.840	2.076	112.160	33,1
Polvilhamento S:Cal .	F	V	521	26.775	472	23.700	52,5
Polvilhamento S:Cal .	F'	I-V	735	37.375	417	20.550	67,8
Total			1.256	64.150	889	44.250	60,1
Testemunha	A	—	730	29.510	349	21.020	74,9
Adubação pobre N . .	G	—	1.084	28.050	345	8.700	78,4
Adubação rica N . .	G'	—	182	14.000	42	1.150	85,9

(a) I — Inverno: V — Verão.

EXPERIÊNCIA DE 1946-47

O plano experimental foi executado nas mesmas goiabeiras, conforme os ensáios anteriores.

O tratamento de inverno efetuou-se em 30-7-46. As pulverizações de verão foram iniciadas em 30-8-46, e prosseguidas com espaçamento de mais ou menos quinze dias até 15-2-47.

A eficiência dos tratamentos foi julgada pela colheita, pois, como no ensaio anterior, foi anotada a produção em peso, dos frutos doentes e sadios para cada árvore tratada. Como haviamos observa-

do anteriormente, talvez um dos maiores prejuizos da doença se manifesta nos botões florais e frutinhos. Para termos uma ideia da sua intensidade numérica, resolvemos proceder à contagem dos frutinhos mumificados, referentes a cada árvore do ensaio.

Na tabela 4 encontram-se os números que exprimem a contagem dos frutos mumificados, e o número dos frutos doentes e sadios.

TABELA 4
Resultados da colheita em 1946-1947.

Tratamentos	Letra	Época (a)	N.º frutos mumificados	Frutos doentes		Frutos sadios		% media do n.º frutos doentes
				N.º	Peso gr.	N.º	Peso gr.	
C. Bordalêsa	B	V	4.609	566	22.100	732	42.200	41,6
C. Bordalêsa	B'	I-V	3.731	732	26.700	818	40.250	47,8
Total			8.340	1.298	48.800	1.550	82.450	44,7
C. sulfocálcica . . .	C	V	6.738	3.841	71.650	1.452	60.650	70,6
C. sulfocálcica . . .	C'	I-V	8.295	4.608	85.450	1.296	56.150	76,4
Total			15.033	8.449	157.100	2.748	116.800	73,5
Enx. molhavel . . .	D	V	15.845	371	18.600	128	5.200	75,0
Enx. molhavel . . .	D'	I-V	19.509	443	18.850	128	5.000	80,0
Total			35.354	814	37.450	256	10.200	77,5
C. cuprosa	E	V	3.771	807	21.300	970	51.150	44,4
C. cuprosa	E'	I-V	4.451	734	21.230	996	51.400	42,8
Total			8.222	1.541	42.530	1.966	102.550	43,5
Polvilhamento S:Cal .	F	V	7.564	4.544	61.500	544	20.750	87,5
Polvilhamento S:Cal .	F'	I-V	12.770	3.134	43.000	554	18.500	80,2
Total			20.334	7.678	104.500	1.098	39.250	83,8
Testemunha	A	—	12.002	1.935	8.050	—	—	100,0
Adub. pobre N . . .	G	—	4.615	6.114	54.150	753	32.300	87,0
Adub. rica N . . .	G'	—	5.666	4.907	63.650	757	31.000	86,3
Total			10.281	11.021	117.800	1.510	63.300	86,6

(a) I — Inverno; V — Verão.

Conforme observamos, durante a execução das pulverizações foi intenso o ataque da ferrugem, apresentando-se as goiabeiras vigorosas com ótimo porte e brotação, em parte devido aos tratos culturais e especialmente à adubação geral.

Destacam-se novamente os tratamentos com calda bordalêsa e calda cuprosa. Esta ultima causou novamente danos às fôlhas e frutos. Com relação aos frutos mumificados, constata-se que o prejuizo provocado pela doença é avultado; no entretanto, com os fungicidas eficientes, houve grande redução dos frutinhos lesados. Verifica-se novamente que os fungicidas à base de enxofre são ineficientes no contrôle da ferrugem da goiabeira.

As plantas adubadas, quer com a mistura rica ou pobre em nitrogênio, apresentaram identica infecção.

EXPERIÊNCIA DE 1947-48

O goiabal, no inverno de 1947, foi intensamente atacado pela broca do tronco *Timocratica albella* (ZELLER) que devastou numerosas goiabeiras, impossibilitando o prosseguimento da experiência.

Restauramos o pomar, efetuando uma poda total, em Agosto de 1947, nas plantas atacadas e uma adubação com materia orgânica. As poucas plantas, ainda em bom estado, foram tratadas com calda bordalêsa a 1%.

EXPERIÊNCIA DE 1948-49

Considerando-se os resultados dos anos anteriores, conclue-se que existe a possibilidade do contrôle da ferrugem por meio de pulverizações quinzenais com calda bordalêsa. Ressalta, entretanto, que a execução de tratamentos quinzenais é antieconomica e pouco viável.

Resolvemos então organizar um plano, para verificar a eficiência de pulverizações mensais com calda bordalêsa, que designaremos por 1.ª série. Empregamos as goiabeiras situadas a partir da 10.ª fileira, em número de 119 plantas. Foram divididas em dois grupos, no sentido longitudinal, que receberam respectivamente o tratamento com calda bordalêsa a 2% e calda bordalêsa a 1%. Adotamos a calda bordalêsa a 2%, pela analogia com o tratamento preconizado para videira em São Paulo e porque pensamos na possibilidade de manter sôbre a goiabeira um revestimento mais concentrado e por um praso mais longo.

Outro problema sério na goiabeira é o da mosca da fruta, sendo a mais comum a *Anastrepha fraterculus* (WIED.). A titulo de observação adicionamos às pulverizações com calda bordalêsa 300 gramas de DDT molhavel a 50% para verificar o seu efeito sôbre a mosca da fruta.

Executamos o tratamento de inverno em 20-7-48. As aplicações de verão foram realizadas em 6-9, 6-10, 17-11 e 20-12. Procedemos à colheita das goiabas de cada grupo, anotando primeiro o número de frutos doentes e depois, à medida que amadureciam, o número e peso das goiabas sadias.

Na 2.ª série desejamos avaliar o comportamento de diversos fungicidas no contrôle da ferrugem da goiaba. Com êsse fim, aproveitamos 4 fileiras de goiabeiras de 16 plantas cada uma, situadas próximas à estrada principal. Dividimos a área em quatro faixas, de modo a comportar 8 tratamentos e as respectivas fontes de inóculo. Havia quatro repetições de cada tratamento. Adotamos o criterio anterior, que consistiu em considerar cada goiabeira como uma das repetições do tratamento.

Os novos fungicidas comerciais contêm os seguintes principios ativos: Spersul e enxôfre Magnetico: enxôfre; Composto de cobre e Perenox: cobre; Fermate: dimetil-ditiocarbamato ferrico.

Os tratamentos foram designados pelas seguintes letras: Sp-Spersul 0,5%, S-Fermate 0,25%, B-calda bordalêsa 1%, E-Enxôfre molhavel Magnetico 1%, C-calda sulfocálcica (32° Baumé) 1:50, V-composto de cobre 0,5%, P-Perenox 0,4% e a testemunha A.

Aplicamos na 5.ª fileira de goiabeiras, constituida por 15 plantas das variedades doces, servindo como uma bordadura, a calda bordalêsa a 1%, a guisa de testemunha suplementar.

Os resultados referentes às fontes de inóculo foram também anotados, como indicação da infecção natural do goiabal, em complemento às testemunhas.

As aplicações foram efetuadas na mesma data que as referidas anteriormente para a calda bordalêsa, isto é, com espaçamento de um mês.

Apresentamos na tabela 5 os resultados da colheita representada pelo número de frutos doentes e o número e peso dos sadios, e a porcentagem do número de frutos doentes.

Prevaleceu no pomar um ataque medio da ferrugem que apareceu sòmente em Janeiro.

A primeira observação que se pode fazer na tabela 5, é a da boa concordância entre os dados que exprimem a infecção na testemunha e na fonte de inóculo.

Em seguida destacamos os resultados da 1.ª série com a calda bordalêsa a 1% e 2%, usado nos dois grupos de árvores que revelam a ótima proteção que poderá ser obtida nos pomares assim tratados.

TABELA 5
Resultados da colheita de 1949.

Tratamento	Letra	N.º plantas	N.º frutos doentes	N.º frutos sadios	Peso frutos sadios gr.	% media do n.º frutos doentes
1.ª série						
C. bordalêsa 2% . .		63	108	4.495	310.900	2,3
C. bordalêsa 1% . .		54	22	3.821	277.500	0,6
2.ª série						
Spersul	Sp	4	154	81	6.700	65,5
Fermate	S	4	58	168	9.300	25,7
C. bordalêsa 1% . .	B	4	18	88	6.600	17,0
C. cuprosa	E	4	66	34	2.300	66,0
C. sulfocálcica . . .	C	4	46	93	8.500	33,0
Composto A	V	4	40	205	15.000	16,3
Testemunha	A	4	302	445	24.650	40,4
Perenox	P	4	43	148	10.800	22,5
Fontes de inoculo . .	—	18	279	279	22.200	50,0
5.ª Fil. C. bordalêsa .		15	38	253	27.500	13,0

Resta-nos ainda apreciar o efeito do DDT adicionado à calda para controlar as moscas das frutas. Referir-nos-emos apenas a uma observação sobre o número de goiabas bichadas em cem frutos maduros. Encontramos para a testemunha 68% das goiabas atacadas, nos tratados com calda bordalêsa 1% + DDT, 31% de frutos com mosca e na calda bordalêsa 2% + DDT foram contados 40% de frutos bichados. Esses resultados apenas indicam haver uma possibilidade da redução do ataque da mosca com pulverizações adequadas.

Com relação à 2.ª série os fungicidas comerciais que rivalizaram com o padrão que é a calda bordalêsa foram o Composto de Cobre e o Perenox, mostrando-se um pouco inferior o Fermate. Os fungicidas à base de enxofre molhavel, como o Spersul e a calda sulfocálcica, tornaram a demonstrar uma proteção muito precaria dos frutos.

EXPERIÊNCIA DE 1949-50

Tivemos por objetivo experimentar alguns outros fungicidas comerciais e efetuar mais uma contraprova da eficiência da calda bordalêsa.

O ensaio dos fungicidas comerciais foi efetuado nas goiabeiras localizadas na extremidade oposta à avenida principal. Era constituido por seis repetições e oito tratamentos, considerando-se cada planta como uma repetição. Permaneceram entre as plantas pulverizadas as goiabeiras sem tratamento como fonte de inoculo conforme o metodo anteriormente empregado.

Os fungicidas comerciais experimentados, com a respectiva dose e princípio ativo, são os seguintes: Perenox 0,5% e Cuivre Sandoz, 0,5% (ambos oxido cuproso amarelo), Parzate 0,25% (etileno-bis-ditiocarbamato de zinco), B. C. A. 0,5% (arseniato básico de cobre) e composto de cobre 0,5% (oxicloreto de cobre).

A demonstração com a calda bordalêsa foi realizada com as goiabeiras localizadas proximas à estrada.

Os tratamentos tiveram início em 1-8-49 e foram repetidos mensalmente até fevereiro.

Ilustramos na tabela 6 os dados que exprimem a colheita total das diferentes plantas nos tratamentos empregados.

TABELA 6
Resultado da colheita 1949-1950.

Tratamento	Letra	N.º plantas	N.º frutos doentes	N.º frutos sadios	% media do n.º frutos doentes
C. bordalêsa	B	6	97	965	9,1
Perenox	P	6	277	848	24,6
Cuivre Sandoz . . .	Sa	6	362	1.392	20,6
Parzate	Pz	6	528	1.135	31,7
C. sulfocálcica	C	6	432	419	50,8
B. C. A.	H	6	347	1.007	25,6
Composto de cobre .	V	6	693	1.041	40,0
Test. (s/trat.) . . .	A	6	874	427	67,2
Fonte de inoculo (s/ trat.)		27	2.493	2.554	49,4

A infecção teve maior intensidade no inicio de Dezembro. Durante os meses de janeiro e fevereiro choveu abundantemente, o que, acreditamos, teve influência nos resultados. Este fato acentuou a eficiência da calda bordalêsa em relação aos produtos comerciais que se haviam comportado bem no ano anterior. Os fungicidas Cuivre Sandoz e Perenox, ambos óxido cuproso amarelo, apresentaram resultados semelhantes, e em seguida o B. C. A., um arseniato basico de cobre. Com resultados inferiores encontram-se o Parzate, Composto de cobre e calda sulfocálcica.

Quanto aos lotes tratados com calda bordalêsa, não foi efetuada a colheita para cada grupo, mas as observações realizadas confirmaram plenamente os ótimos resultados alcançados nos anos anteriores.

TRATAMENTO ESTATISTICO DOS RESULTADOS

Os dados experimentais, após serem transformados em arco sen $\sqrt{\%}$, foram analisados pelo metodo de "variancia" (SNEDECOR 1946). Nos ensáios de 1945-46 e 46-47, as testemunhas foram eliminadas da analise de "variancia".

Com referência à infecção da folhagem, apresentada na tabela 2, a analise de "variancia" demonstra que houve um efeito protetor altamente significativo dos fungicidas, indicando que estes resultados não se devem a puro acaso. Verifica-se também que a época de aplicação foi um fator que se mostrou altamente significativo, revelando que as aplicações de inverno e verão foram mais eficientes do que as pulverizações só de verão, até a data do levantamento da infecção.

A eficiência dos fungicidas se acha ilustrada na figura 2 e conclue-se que a calda bordalêsa se comportou de modo superior aos outros fungicidas classicos, num nivel altamente siginificativo, quanto à proteção da folhagem.

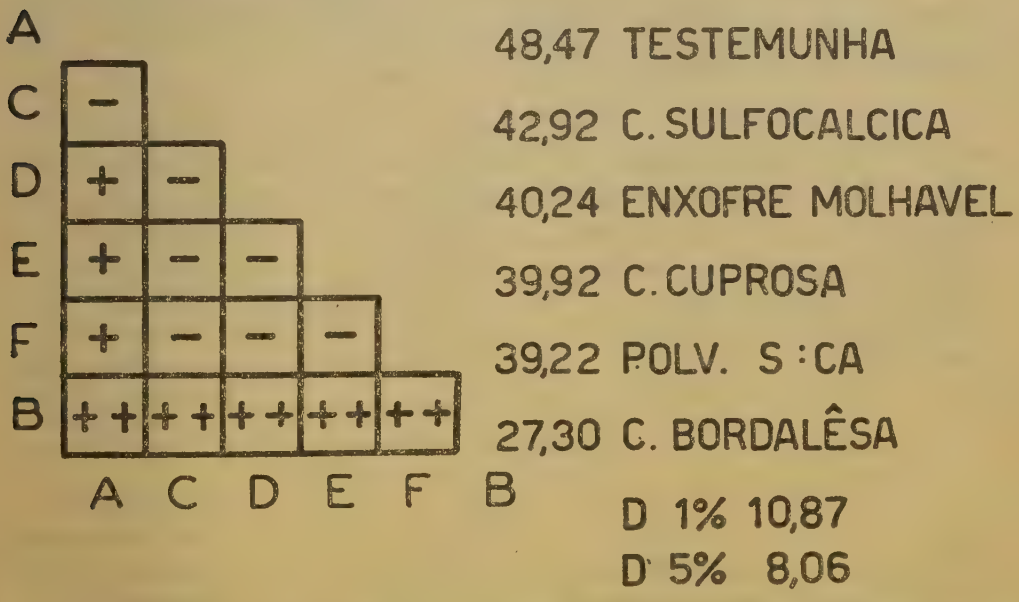


Fig. 2 — Representação gráfica da significação estatistica das diferenças entre o efeito de diversos fungicidas na proteção da folhagem, em 27-12-45. A média é a porcentagem de infecção x transformada em arc sen $\sqrt{x}$. Este gráfico e os seguintes foram construidos dispondo-se os diferentes tratamentos na vertical em ordem decrescente de cima para baixo e na horizontal em ordem crescente da esquerda para a direita. Obtem-se o grau de significação estatistica entre dois tratamentos da seguinte maneira: procura-se na horizontal a letra relativa ao tratamento de menor infecção e segue-se a faixa correspondente em direção ascendente até encontrar a faixa que parte do eixo vertical, relativa ao outro tratamento. No quadrado, assim constituido, representativo de ambos os tratamentos, encontra-se um dos sinais convencionais: (-) indica não haver diferença significativa; (+) diferença significativa no nivel fiducial 5% e (++) diferença altamente significativa no nivel fiducial 1%.

O efeito dos tratamentos no período 1945-46 (tabela 3) sôbre a proteção dos frutos contra a ferrugem, evidenciou-se, pela analise de "variancia", altamente significativo.

A classificação dos fungicidas encontra-se na figura 3-a, na qual se apresentam as diferenças significativas entre os tratamentos, constatando-se que são os melhores a calda bordalêsa e a calda cuprosa. Apresentam resultados bastante inferiores a calda sulfocálcica, enxofre molhavel e polvilhamento com S:Cal. A analise também demonstrou que não houve influência da época de aplicação na proteção dos frutos.

Na figura 3-b ilustramos os resultados referentes à infecção dos frutos em 1946-47. Constata-se que os tratamentos também protegeram as goiabas de modo altamente significativo.

O resultado do ano anterior foi plenamente confirmado, verificando-se que a época de aplicação não influe significantemente nos resultados da pulverização.

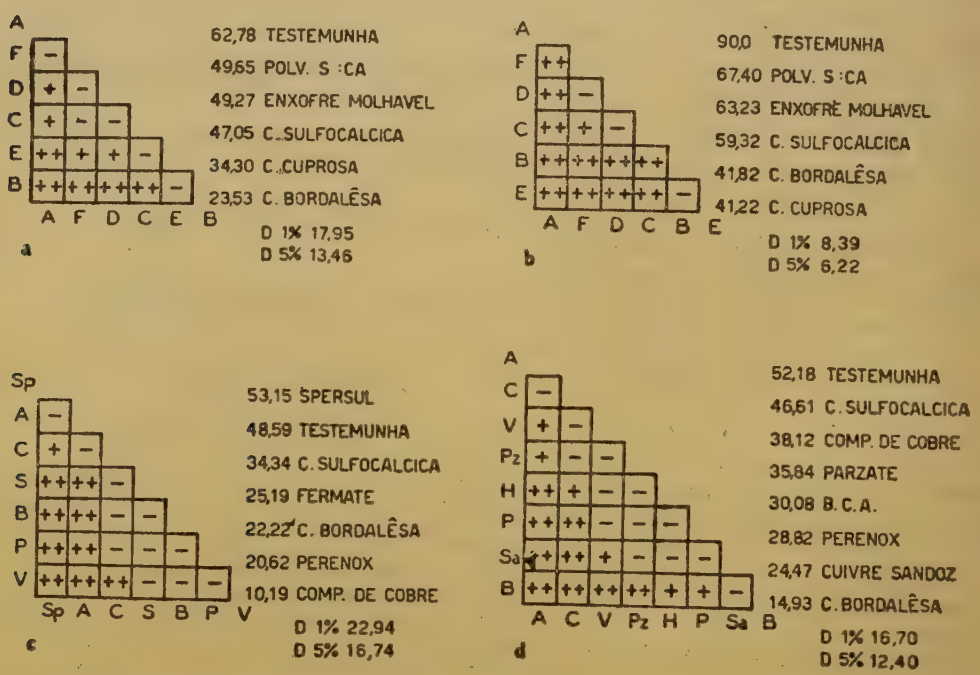


Fig. 3 — Representação gráfica da significação estatistica das diferenças entre o efeito dos fungicidas na proteção dos frutos de acôrdo com as convenções da fig. 2-a, safra de 1945-46; b, safra de 1946-47, c, safra de 1948-49, da safra de 1949-50

A classificação dos fungicidas também manteve-se a mesma, em linhas gerais, pois não houve diferença estatisticamente significativa entre a calda cuprosa e bordalêsa. Os outros fungicidas, obedecendo à mesma ordem de classificação, revelaram diferenças altamente significativas com relação aos produtos à base de cobre.

A analise dos dados de 1948-49 (tabela 5) foi efetuada abrangendo sòmente os tratamentos com 4 repetições, inclusive a testemunha, que se mostrou melhor do que o Spersul. Pela análise de variancia verifica-se que as diferenças no grau de infecção nas goiabeiras não foram obra do acaso, mas consequência dos tratamentos que se mostraram altamente significativos.

Os resultados encontram-se representados na figura 3-c, que mostra as diferenças significativas entre os tratamentos. Verifica-se que não houve diferença significativa entre o composto de cobre, o Perenox, a calda bordalêsa e o Fermate. Demonstraram diferenças altamente significativas a calda sulfocálcica, a testemunha e Spersul, com relação ao composto de cobre.

Os resultados do ensaio de 1949-50 (tabela 6) foram analisados de modo semelhante ao do ano anterior. Verifica-se que a proteção dos frutos foi uma consequencia do efeito dos fungicidas, os quais influiram de modo altamente significativo.

Na figura 3-d representamos as diferenças significativas entre os tratamentos. Pelo seu exame constata-se que a calda bordalêsa teve um comportamento identico ao Cuivre Sandoz; mas foi significantemente melhor do que o Perenox e B. C. A. e muito superior ao Parzate, Composto de Cobre, Calda sulfocálcica e testemunha, num nivel fiducial (1%) altamente significativo.

CONCLUSÕES GERAIS

A primeira observação efetuada foi a de uma diferença de suscetibilidade das 3 variedades de goiabeira empregadas, pois as variedades doces se mostraram mais sujeitas ao ataque do que a azêda.

Talvez este fato possa explicar a ausencia da ferrugem na Florida, onde as goiabas azêdas são preferidas e mais cultivadas do que as variedades doces (RUEHLE 1948).

Com relação às adubações pobre e ricas em nitrogênio, os resultados que obtivemos não revelam um efeito na suscetibilidade da planta. No entanto as observações demonstraram que a doença ata-

ca os tecidos novos, em pleno desenvolvimento e que as plantas em franco vigor vegetativo, com brotação vigorosa estão mais sujeitas ao ataque da ferrugem.

Os resultados indicam que o tratamento de inverno não tem importância no contrôle da ferrugem que ataca os frutos. A goiabeira caracteriza-se pela queda gradativa das fôlhas, as quais não constituirão mais um fóco de infecção na planta mas poderão tornar-se tal no solo. Destacamos que o inicio da infecção está condicionado pelas chuvas do inverno e pela época da brotação. Verifica-se que nos invernos chuvosos a goiabeira inicia a brotação em Agosto, oferecendo ótimas condições para a infecção. Acreditamos que a época do início dos tratamentos poderá ser antecipada ou atrazada de acôrdo com a ocorrência de chuvas no inverno e a época de brotação da planta.

Da primeira serie de ensaios com os fungicidas classicos ficou bem patente que os produtos à base de enxofre, como o enxofre molhavel, calda sulfocálcica e polvilhamento com S:Cal, são incapazes de controlar a ferrugem. As caldas a base de cobre, como a bordalêsa e cuprosa, oferecem bom contrôle da ferrugem. A calda cuprosa, cujo preparo é muito delicado e de acidez dificilmente controlavel, provoca danos às fôlhas e frutos e porisso não tem valor pratico.

As experiências que incluiram alguns produtos comerciais confirmaram a excelência da calda bordalêsa a 1% e indicaram que a eficiência dos fungicidas está relacionada com a intensidade da precipitação atmosferica. De modo geral o oxido cuproso, como o Perenox e Cuivre Sandoz, apresentaram resultados mais uniformes do que o composto de cobre, um oxicloreto cujos resultados no ano de muita chuva foi bem inferior. Outro composto, o B. C. A., que é um arseniato basico de cobre, revelou resultados regulares. Os compostos organicos experimentados, Fermate, (dimetilditiocarbamato ferrico) e Parzate (etileno-bisditiocarbamato de zinco) não demonstraram resultados satisfatórios e acreditamos que no caso das ferrugens não são muito especificos, pois em nossas experiências de contrôle da ferrugem do figo (inedito) também não apresentaram bons resultados. Ficou patenteado mais uma vez a ineficiência dos compostos á base de enxofre, como o Spersul e a calda sulfocálcica, no contrôle da ferrugem da goiabeira.

De acôrdo com os resultados gerais, acreditamos que a calda bordalêsa a 1% ou 2% controla satisfatoriamente os prejuizos causados pela doença. Essa eficiência é consequência das ótimas características da calda bordalêsa, quer pela toxicidade para o fungo, quer

pelas suas propriedades físico-quimicas, proporcionam um ótimo espalhamento, molhando perfeitamente os frutos, com deposito que resiste à lavagem pelas chuvas e permanece longo periodo sôbre a superficie da goiabeira. Recomendamos a sua aplicação após as primeiras chuvas no inverno e a continuação mensal desde o início da brotação até dezembro ou janeiro, de acôrdo com a intensidade da doença e ocorrência de chuvas.

CONTROL OF GUAVA RUST BY SPRAYING

Abstract

We report a series of spraying experiments on guava trees (Psidium guajava L.), from 1943 to 1950, with the purpose of controlling "rust" (Puccinia psidii WINTER).

The experiments were conducted in a guava orchard composed of 250 ten-year old trees, at Campinas, state of São Paulo.

The following fungicides were used: 1 percent Bordeaux mixture; lime-sulfur, 32° Baumé, 1:50; dusting sulfur and lime, 1:2; 1 percent wettable sulfur and 1 percent home made cuprous oxide mixture. The effect upon susceptibility to rust infection of two levels of nitrogen in fertilizer mixtures (one poor, with 40 gr. of nitrogen per kilo of mixture; another one rich, with five times as much nitrogen) was also tried.

In the experiments of 1949 and 1950 were included some commercial fungicides, such as yellow cuprous oxide, Perenox and Cuivre Sandoz; copper oxychloride, Copper Compound; basic copper arsenate, B. C. A.; wettable sulfur, Spersul; ferric dimethyldithiocarbamate, Fermate and zinc ethylene bis-dithiocarbamate, Parzate.

The first year results were estimated by grading leaves according to the numbers of lesions. In the following years the efficiency of the sprays was judged more adequately from the yield and number of healthy and spotted fruits and from the percentage of spotted fruits.

The experiment was designed as randomized blocks that allowed a statistical analysis of the results and led to the following conclusions:

1 — The sweet varieties, white and red, were more susceptible to rust infection than the sour guava.

2 — A direct relation was observed between vigor of vegetative growth and rust infection.

3 — The fertilizer mixtures, poor or rich in nitrogen, however, did not show any influence on the plant susceptibility to rust.

4 — The winter spraying did not usually play any important rôle in rust control. It was observed that the disease appeared early when it rained in winter and in that case winter spraying was useful.

5 — The sulfur fungicides, such as lime sulfur, wettable sulfur and dusting sulfur were unable to control guava rust.

6 — Bordeaux mixture and home made cuprous oxide mixture afforded a very good protection of the fruits. The home made cuprous oxide proved harmful to leaves and fruits.

7 — Among the commercial tested Perenox and Cuivre Sandoz showed some better results than copper compound and B. C. A., principally in the rainiest of the two years in which they were tested though the differences were not statistically significant. The organic fungicides such as Fermate and Parzate did not control guava rust.

8 — The spraying program against guava rust should consist in monthly spraying with Bordeaux mixture (1:1:100). It is advisable to do the first application after the first winter rains and the next ones when the trees sprout; and then to repeat the treatment monthly, until December or January, according to the rainfall and occurrence of the disease.

BIBLIOGRAFIA

Blackford, F. W. — 1943 — Home-made cuprous oxide mixture, *Queensland Agr. J.* 57: 97-101.

Raleigh, W. P. — 1933 — A homemade colloidal copper spray. *Phytopathology* 23: 29.

Ruehle, G. D. — 1948 — The common guava — A neglected fruit with a promising future. *Economic Botany*, 2: 306-325.

Snedecor, G. W. — 1946 — Statistical Methods 4 Ed. The Iowa State College Press.

DA POSSIVEL EFICIÊNCIA ANTINEOPLÁSICA DE VAPOR SUPERAQUECIDO (v.s.) DE ÉTER, BALSOFORME E CHLOROFORMIO

POR

Walter Treuherz

São Paulo, Brasil

Com 1 figura no texto

INTRODUÇÃO

Os estudos de cancerologia experimental, como é sabido, constituem uma das maiores preocupações dos laboratórios de patologia. Graças a trabalhos realizados por pesquizadores estrangeiros, não é pequeno o acervo de novos conhecimentos sobre questões ligadas ao desenvolvimento do cancer. Entre nós alguma coisa já tem sido feita nesse sentido, sendo-nos motivo de regozijo o fato de alguns pesquizadores de nosso país estarem atualmente interessados em tão importante assunto. É, pois, com a maior satisfação que viemos acompanhando as experiências realizadas pelo Dr. WALTER TREUHERZ que, depois de ter verificado alguns efeitos da administração de vapores aquecidos de eter a cancerosos humanos, está agora estudando a ação desses vapores em camondongos portadores de um carcinoma transplantavel.

Convem lembrar que os tumores transplantaveis de animais de laboratório ainda constituem a grande base em que se vão firmando os modernos conhecimentos de cancerologia. Não se trata de um material impróprio para tais estudos, como poderia parecer a primeira vista, porquanto o cancer dos animais de laboratório é uma lesão absolutamente idêntica, do ponto de vista morfológico, ao cancer da espécie humana. E se ha maior conhecimento da patogenia do cancer de animais de laboratório, isso se deve principalmente á possibilidade de se realizarem, com os animais seus portadores, experiencias que não seriam possiveis no homem sem o expor a consequências graves. Por outro lado é preciso que fique bem claro que o cancer do camondongo não é, como alguns levianamente afirmam, uma lesão de carater relativamente benigno "que desaparece com qualquer tratamento". Para quem tenha trabalhado com esse material, é elementarissima a noção da gravidade com que o cancer transplantado se desenvolve, uma vez que esteja adatado aos representantes de cepas de animais selecionados. Involuções espontâneas passiveis de serem confundidas com curas produzidas por meios experimentais só se verificam quando o pesquizador, sem conhecimento do assunto, emprega animais de linhagens diferentes, portanto dotados de patrimônios hereditários diversos. O experimentador avisado, porém, não labora em semelhante erro. Empregando os meios reconhecidamente eficientes, só muito dificilmente é que se consegue obter a involução e o desaparecimento dos tecidos cancerosos que se desenvolvem. Por isso mesmo póde se dizer que, sendo os tumores transplantaveis adatados a determinadas linhagens, são tecidos de grande vitalidade e resistência, que oferecem grandes vantagens para verificação da eficiência de agentes anticancerosos. Diante desse fato, póde-se dizer que qualquer processo que for eficiente contra esses tecidos terá muito mais ansa de ser ativo sobre tecidos cancerosos humanos, que são de vitalidade relativamente baixa, por não estarem com a virulência exaltada atravez de successivas passagens.

Por êsses e outros motivos é que, vendo nos trabalhos do Dr. W. T. um novo caminho para se estudar o assunto, com a maior satisfação apresentamos suas primeiras observações e estudos experimentais á consideração dos que se interessam pelo assunto.

Convem esclarecer que tivemos oportunidade de acompanhar com todo o interesse os trabalhos experimentais considerados nesta comunicação, tendo-nos sido dada a oportunidade de controlar os resultados nela referidos.

J. R. MEYER

Influenciado por uma série de publicações em que M. TIEGEL (1, 2 e 3), relata ação benéfica surpreendente do v. s. de éter em doentes portadores de carcinoma inoperavel, comecei êsse tratamento em setembro 1949 (4). Nos 50 doentes que até agora tratei nenhuma cura consegui. No entanto cheguei a verificar melhoras e alívio tão consideraveis que insisto em afirmar que neste método residem possibilidades terapêuticas que devem ser investigadas.

Os resultados escassos nos 50 doentes tratados são compreensiveis, tanto mais porque recebi exclusivamente doentes já insusceptiveis a qualquer tratamento de rotina. Focalisando êste pormenor importante, os resultados conseguidos me pareceram tão animadores que resolvi examinar a ação de diversos v.s. em condições mais favoraveis, isto é em organismos que não se encontrassem praticamente na fase final, destrutiva, do carcinoma.

Nem todos os estudos que passarei a descrever poderiam ter sido efetuados sem o auxilio generoso e paciente do sr. Dr. J. R. MEYER, D.D. Diretor da Divisão de Biologia Animal do Instituto Biológico, para quem não encontro palavras adequadas de agradecimento. Tal era o interesse do Dr. MEYER, que paralelamente com os meus estudos experimentais com vapores superaquecidos fez uma série de experiências com éter não aquecido, trabalho que serve particularmente para demonstrar as fundamentais diferenças entre a ação do v. s. e do vapor à temperatura do ambiente.

Quanto a êste assunto não existe publicação alguma que eu conheça; tive portanto de verificar, primeiro, a quantidade de v. s. compativel com a vida dos camondongos. E nas diversas experiências feitas em animais sadios, cujas minúcias aqui não interessariam, verifiquei que a média de 2 cc de éter aplicados diáriamente durante cerca de 20 minutos constitui uma dose suportavel para os animais.

Em setembro 1950 comecei as experiências com v. s. de éter em um lóte de 9 camondongos inoculados com pedacinhos de tumor que se originava de um adenocarcinoma da mama e que após muitas passagens tinha assumido o aspéto histopatológico de um meristoma.

Tratava-se:

1) de 4 camondongos inoculados em 1-9-50
2) de 4 camondongos inoculados em 11-9-50
3) de 1 camondongo inoculado em 13-9-50.

Foram tratados:

a) 2 camondongos, inoculados no dia 1-9-50
b) 1 camondongo cabeça vermelha, inoculado no dia 1-9-50
c) 2 camondongos lombo vermelho, inoculados no dia 11-9-50
d) 1 camondongo cabeça vermelha de um lado, inoculado no dia 13-9-50.

A aplicação do v. s. foi feita da seguinte maneira: de uma bureta cáem gotas de éter dentro de garrafa imersa em água de 70-75°. O v. s. assim formado é aspirado para o receptáculo fechado onde se encontram os camondongos.

TABELA 1

Fórma de tratamento com v. s. de eter, seguida para os dois camondongos do primeiro lote.

2 camondongos (amarelos) inoculados 1-9-50				
N.º de Aplicações	Data	cc	min	Observações
1	11.9	1.1	12	
2	12·9	2·0	8	
3	13.9	1.95	4	
4	14.9	1.50	7	
5	18.9	1.00	11 1/2	
6	19.9	2.00	16 1/2	
7	20.9	1.70	8 1/2	
8	21.9	2.3	11 1/2	
9	25·9	2.0	7	
10	26.9	2.1	6 1/2	1 camondongo com grande tumor morreu
11	27.9	2.5	10	
12	2.10	2.0	14	
13	4.10	2.8	24	
14	9.10	2.1	20	

Comentário:

Destes 2 camondongos, 1 morreu com grande tumor no dia 27-9; 1 não teve tumor e está sem tumor até 17-4-51 = 229 dias.

O camondongo sobrevivente recebeu 27.05 cc em 14 aplicações de v. s. éter. Considerando que 1 camondongo pesa 25 grs., o camondongo sobrevivente fez inhalação de v. s. correspondente a 64.92 litros de éter para um adulto de 60 kg. O camondongo sobrevivente está em excelentes condições. Este fato corrobora a fenomenal inocuidade do v. s. de éter.

Os doentes humanos tratados com v. s. de éter receberam entre 20 ou 30 aplicações de 50 cc, perfazendo o total de 1,0-1,5 litros dentro de 60-90 dias, tendo sido suficiente esta quantidade para a obtenção de resultados consideraveis de alívio e melhora, embora passageiros.

Portanto, sómente esta única experiência demonstra a grande margem de tolerância do v. s. de éter.

O camondongo ad b recebeu 2,5 cc do v. s. de éter nos dias 13 e 14 de setembro. Este camondongo já tinha grande tumor em 13-9-50 correspondendo portanto aos doentes que começaram o tratamento quando o carcinoma já tinha alcançado proporções destrutivas incoerciveis.

TABELA 2

Fórma de tratamento com v. s. de éter, seguida para os dois camondongos do grupo c.

2 camondongos inoculados em 11-9-50				
N.º de Aplicações	Data	cc	min	Observações
1	11.9	1.7	17	
2	12.9	2.0	8	
3	13.9	1.95	4	
4	14.9	1.50	7	
5	18.9	1.0	21 1/2	
6	19.9	2.0	16 1/2	
7	20.9	1.7	8 1/2	
8	21.9	2.3	11 1/2	Tumores ++
9	25.9	2.0	7	
10	26.9	2.1	6 1/2	
11	27.9	2.5	10	
12	2.10	2.0	14	
13	4.10	2.8	24	Tumores ++
14	9.10	2.1	20	

Comentário:

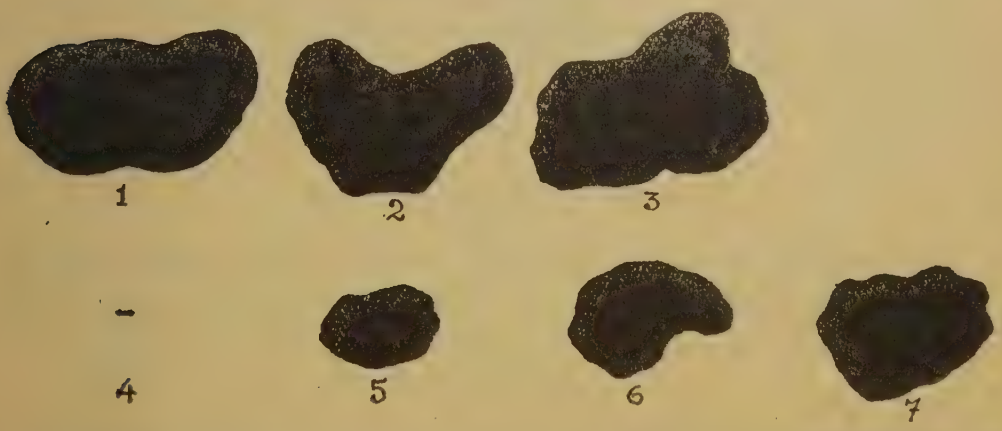
Estes 2 camondongos tinham tumores pequenos e médios conforme desenhos feitos pelo Dr. MEYER. (Ns. 5 e 6 da figura N.º 1).

No dia 17-10 ambos tinham tumores; no dia 30-10 ambos tinham tumores; um destes camondongos morreu no dia 4-11-50; no dia 7-11 o camondongo sobrevivente não tem mais tumor; no dia 17-11, 6-12, 6-2-51 e 17-4-1951, foi verificado que o camondongo sobrevivente continúa sem tumor. (218 dias).

O camondongo ad d recebeu ao todo 12 aplicações de v. s. de éter do dia 13-9 até 9.10, tendo morrido em 4-11-50. (51 dias).

Os desenhos dos tumores (traçados pelo Dr. MEYER no dia 10-10-50) mostram que os tumores maiores se encontraram nos 3 camondongos testemunhas, que morreram respectivamente nos dias 14, 23 e 27 de outubro. (Existe sómente o desenho do tumor de um camondongo ad a porque o outro morreu no dia 27-9 por acidente. Não existe desenho do tumor do camondongo ad b porque êste morreu, com tumor + + +, no dia 18-9-50). Os desenhos dos tumores dos camondongos ad c mostram que são bem menores do que os dos testemunhas. O tumor ad d, embora grande e exulcerado, não atingiu o tamanho dos tumores dos 3 testemunhas.

Figura N.º 1
TUMORES DO LÓTE N.º 1



N.os 1, 2, 3, — Silhuetas indicando o tamanho dos tumores de 3 camondongos que não foram tratados (N.º 1: 32 dias, N.º 2 e 3: 43 dias após a inoculação)
N.º 1 morreu 44 dias após a inoculação
" 2 " 47 " " " "
" 3 " 42 " " " "

N.º 4 — Sem tumor — vive ainda no dia 17-4-1951 (218 dias).

N.º 5 — Silhueta do tumor no dia 10-10-51 (30 dias após a inoculação). Este tumor regrediu, desaparecendo completamente no dia 7-11-50 conservando-se este camondongo sem tumor até o dia 17-4-51 (218 dias).

N.os 6 e 7 — Nestes camondongos o tumor desenvolveu-se mais lentamente, acarretando a morte dos portadores respectivamente 51 e 53 dias após a inoculação.

Resumo do primeiro lóte:

1) quanto a sobrevivência.

a) os 3 NÃO TRATADOS:

1 testemunha inoculada no dia 1-9-50 morreu 14-10 = 44 dias;

2 testemunhas inoculadas no dia 11-9-50 morreram 23 e 27-10 = 42 e 46 dias.

média: 44 dias.

b) Os 6 TRATADOS:

2 camondongos ad a inoculados 1-9: 1 morreu 27-9 por acidente; 1 continúa vivo até 17-4-51 = 229 dias.

1 camondongo ad b inoculado 1-9: morreu 18-9 já tinha tumor = 18 dias.

2 camondongos ad c inoculados 11-9: 1 morreu 4-11 = 53 dias, 1 vive ainda = 218 dias.

1 camondongo ad d inoculado 13-9: morreu 4-11 = 51 dias.

2)

TUMORES

Tratados	Não Tratados
66 $^{2}/_{3}$ %	100 %

3) quanto ao tamanho dos tumores: sem excepção, os tumores dos camondongos tratados eram menores do que os dos testemunhas.

Segundo lóte:

11 camondongos inoculados no dia 21-9-50: 5 testemunhas brancos, 6 camondongos vermelhos a serem tratados.

Os camondongos Nrs. 1-3 receberam 7 aplicações de v. s. de éter dos dias 21/9 - 9/10 e 2 aplicações de v. s. de balsoformio nos dias 11 a 12/10, tendo morrido nos dias 9/10, 9/10 e 16/10.

Os camondongos 4, 5 e 6 receberam este tratamento:

TABELA 3

Fórma de tratamento seguida para os camondongos 4, 5 e 6 do segundo lote.

N.º de aplicações		Data	cc	min	Observações
v. s. Éter.	1	21.9	1·6	4 ½	
	2	25.9	2.4	9 ½	
	3	26.9	3.0	12	
	4	27.9	2.2	20	
	5	2·10	2.0	20	
	6	4.10	2.2	23	
	7	9.10	3.1	20	N.º 4 Tumor +++ N.º 5 e 6 Tumor +
v. s. Balsoforme	1	11·10	1.5	33	
	2	12.10	1.7	30	
	3	16.10	0.8	18	
	4	17.10	1.8	17 ½	
	5	18.10	1.7	13	O tumor de n.º 5 parece menor.
	6	19.10	2·0	29 ½	
	7	23.10	1.2	18	
	8	24.10	1.4	22	
	9	25.10	1.0	16	
	10	26·10	0.8	20	Tumor n.º 5 diminuindo
	11	30.10	1.5	24	
	12	31.10	1.5	20	
v. s. Éter	8	6.11	2.0	20'	
	9	7.11	2.5	19'	
	10	8·11	2.1	28'	
	11	9.11	2.5	16	

8-11 Hoje, o camondongo N.º 5 não tem mais tumor.

13-11 Verificação do lóte N.º 2:

a) 2 NÃO TRATADOS: 1 Tumor.

b) 3 camondongos tratados: 2 Tumores.

20-11 Verificação do lóte N.º 2:

a) 2 NÃO TRATADOS: 1 Tumor.

b) 3 camondongos tratados: 1 Tumor.

30-11 Verificação do lóte N.º 2:

a) como 20-11.

b) como 20-11.

6-11 Verificação do lóte N.º 2:
a) como 20-11.
b) 2 camondongos tratados: 1 Tumor.

Comentário: Verifica-se, neste lóte que póde acontecer que o tumor implantado às vezes não se desenvolva, ficando o animal NÃO TRATADO SEM TUMOR e garantido, dessa maneira, um tempo de sobrevivência bastante grande. Não há duvida que êsse acontecimento diminui a apreciação da eficiência do v. s., pois é patente que tambem os animais tratados podem, por coincidência, não desenvolver o tumor implantado, dando assim a falsa impressão de que os tumores não se desenvolveram graças à eficiência do v. s..

Esta falha, no entanto, está plenamente contrabalançada pela observação de animais, já portadores de tumor, que podem ficar inteiramente livres, como aconteceu com o camondongo n.º 5.

De mais a mais verifica-se nesse lóte e nos outros 4 a serem descritos, que, sem exceção, os animais tratados são favorecidos por desenvolvimento numéricamente menor de tumores. Seria uma estranha coincidência que dos camondongos escolhidos a esmo justamente os tratados por méro acaso não formem tantos tumores como os não tratados. Não observei, em camondongo algum, entre cerca de 30 não tratados, o espontâneo desaparecimento de tumor. Nos casos como o do camondongo N.º 5 parece portanto tratar-se de capacidade antineoplásica do v. s..

Como se póde constatar na verificação do dia 13-11-1950, havia 2 NÃO TRATADOS, sendo um com e um sem tumor e 3 camondongos tratados, sendo 1 sem tumor e 2 com tumores. Uma semana mais tarde os camondongos tratados apresentam só um tumor, visto que os dois outros TRATADOS estão SEM TUMOR.

Cessadas as aplicações de v. s., dentro de uma semana o camondongo SEM TUMOR começava outra vez a apresentar um tumor regular.

Este fato merece especial consideração, pois desta maneira é de supôr que por falta de mais aplicações de v. s. de balsofórmio esse camondongo tornou a apresentar o tumor.

Resumo do segundo lóte:

1) q u a n t o a s o b r e v i v ê n c i a:
a) 5 camondongos não tratados:
3 camondongos morreram no dia 6-11 com tumores grandes e exulcerados, 46 dias.
1 camondongo SEM TUMOR ainda vive no dia 2 de Junho 1951, 253 dias.

1 camondongo COM TUMOR morreu no dia 8-12, 88 dias.

b) *6 camondongos tratados*:

Nrs. 1 e 3 morreram por acidente (excesso de dosagem)

N.º 2 morreu no dia 16-10 (25 dias).

N.º 4 morreu no dia 1-12-50 (71 dias).

N.º 5 VIVE SEM TUMOR dia 2-6-51 (253 dias).

N.º 6 VIVE COM TUMOR dia 2-6-51 (253 dias).

2) quanto a formação de tumores:

TUMORES

Tratados	Não Tratados
66 $^{2}/_{3}$ %	80 %

Terceiro lóte:

10 camondongos inoculados no dia 17-10-50.

5 testemunhas.

5 a serem tratados.

1.ª Fáse da experiência:

TABELA 4

Fórma de tratamento seguida para os cinco camondongos do terceiro lote, inoculado em 17-10-50.

N.º de aplicações		Data	cc	min	Observações
v. s. Balsoforme	1	17.10	1.5	20	1 camondongo morreu por acidente
	2	18.10	1.7	13	
	3	19.10	2.0	29 ½	
	4	23.10	1.2	21	
	5	24.10	1.4	22	
	6	25.10	1.0	16	
	7	26.10	0.8	20	
	8	30.10	1.5	24	
	9	31.10	1.5	20	
v. s. Éter	1	6.11	2.0	20	3 camondongos SEM TUMOR 1 camondongo COM TUMOR
	2	7.11	2.5	19	
	3	8.11	2.1	28	4 camondongos SEM TUMOR
	4	9.11	2.5	16	
v. s. Balsoforme	10	13.11	0.6	8 ½	Todos os 4 camondongos SEM TUMOR

a) os não tratados:
em 20-11 um camondongo fugiu e perdeu-se.
dos 4 camondongos restantes 3 tinham tumor.
em 22-11 todos os 4 camondongos brancos tinham tumores.

b) os tratados:
em 18-10 um morreu por excesso de dosagem (acidente).
até o dia 6-11-50 dos 4 camondongos restantes: 1 Tumor.
no dia 7-11-50 TODOS OS TRATADOS ESTAVAM SEM TUMOR.

1.ª Fáse da experiência com o 3.º lóte:

TUMORES

Data	Tratados	Não Tratados
até 22-11-50	0 %	100 %

2.ª Fáse da experiência:

Os 4 camondongos não tratados do dia 17-10 até 22-11, já em estado bastante avançado de tumoração, foram submetidos a aplicações de v. s. de balsoformio após desenho dos tumores pelo Dr. MEYER.

TABELA 5

Fórma de tratamento seguida para quatro camondongos inoculados em 17-10-50 e conservados sem tratamento até o dia 22-11-50.

N.º de aplicações		Data	cc	min	Observações
v. s. Balsoforme	1	22.11	0.4	17	
	2	23.11	1.0	16	
	3	27.11	1.0	19	
	4	28.11	1.0	18	
	5	29.11	1.2	20	
	6	30.11	1.6	10	
v. s. Chloroformio	1	4.12	0.5	17	1 camondongo não tem mais tumor
	2	5.12	0.5	6	
	3	6.12	0.5	20	
	4	7.12	0.5	10	
	5	11.12	0.5	8 ½	
	6	12.12	0.7	16	
	7	13.12	0.4	10	
	8	14.12	0.5	10	
	9	18.12	0.8	21	Morreu um camondongo com Tumor
	10	19.12	0.8	10	
	11	20.12	0.4	10	
	12	21.12	0.6	9	Morreu um camondongo com Tumor
	13	26.12	0.5	10	

Resultado:

a) os NÃO TRATADOS:

No dia 4-12-50 um destes camondongos estava sem tumor, conservando-se assim até o dia 2-6-1951 = 227 dias.

No dia 15-1-51 um destes testemunhas ainda vivia com tumor = 90 dias, outro sem tumor = 90 dias.

b) dos 4 camondongos tratados e sem tumor 1 desenvolveu tumor no dia 6-12. Submetido a 10 aplicações de v. s. de chloroformio do dia 7-12 até 26-12-1950 o tumor diminuiu mas não desapareceu.

Resumo do terceiro lóte:

1.º quanto a sobrevivência (1.ª 2.ª fáse juntos):

a) 4 camondongos NÃO TRATADOS:

1 morreu 18-12-50 (65 dias); 1 morreu 21-12-50 (65 dias);

2 viveram: 1 sem tumor 2-6-51 (227 dias); 1 com tumor 6-2-51 (112 dias).

Nota-se que o tratamento destes camondongos foi iniciado 36 dias após a inoculação.

b) 4 camondongos tratados:

3 sem tumores 6-2-51, 2-6-51 (227 dias).

1 com tumor v. s. 6-2-51 (112 dias).

2.º quanto a formação de tumores:

1.ª fáse:

4 Testemunhas não tratados: 4 tumores = 100%
4 camondongos tratados . . 0 tumores = 0%

2.ª fáse:

4 Testemunhas tratados 36 dias após a inoculação: 3 tumores = 75%.

4 camondongos tratados desde o dia da inoculação e sem tratamento desde o dia 13-11-50, 1 tumor = 25%.

Quarto lóte:

10 camondongos inoculados no dia 14-11-1950.
5 camondongos (brancos) testemunhas.
5 camondongos (vermelhos) a serem tratados.

TABELA 6

Tratamento dos cinco camondongos do quarto lote, inoculados em 14-11-50.

N.º de aplicações		Data	cc	min	Observações
v. s. Balsoforme	1	14.11	1.6	12	
	2	16.11	1.0	17 ½	
	3	20.11	1·1	20	
	4	21.11	2.0	11 ½	Morreu um camondongo. Os 4 restantes refizeram-se
	5	22·11	0·4	17	
	6	23·11	1.0	16	
	7	27.11	1.0	8	3 camondongos sem tumor 1 camondongo com pequeno tumor; este foi pintado laranja.
	8	28.11	1.0	18	
	9	29.11	1.5	10	
	10	30.11	1.6	15	os 3 camondongos vermelhos sem tumor não receberam mais aplicações.

O camondongo pintado laranja recebeu 11 aplicações de v. s. de Chloroformio no dia 4-12 — 20-12, tendo morrido no dia 21-12 com grande tumor.

Um camondongo, inoculado em 14/11 e sem tumor até 5/12 e com tumor desde 6/12, recebeu 10 aplicações de v. s. de chloroformio desde o dia 7/12 — 26/12. O tumor não desapareceu.

Verificação 6-12-50: a) 5 camondongos não tratados: 3 Tumores
b) 4 camondongos tratados: 2 Tumores

Resumo do lóte n.º 4:

TUMORES

Tratados	Não Tratados
Até 5-12-50 . . . . 25 %	60 %
Depois 5-12-50 . . . 50 %	60 %

Quanto a sobrevivência:

a) os NÃO TRATADOS:

1 camondongo morreu ..... 2-1-51 = 49 dias
1 camondongo morreu ..... 10-1-51 = 57 dias
1 camondongo morreu ..... 12-1-51 = 59 dias
2 camondongos sem tumor vivem ... 2-6-51 = 196 dias

b) os TRATADOS:

2 com tumor — vivem 6-2-51 = 84 dias
2 sem tumor — vivem 2-6-51 = 196 dias

Quinto lóte:

10 camondongos inoculados em 2-12-50.
5 testemunhas.
5 a serem tratados.

5 camondongos, inoculados em 2-12-50 receberam 13 aplicações de v. s. de chloroformio de 7-12 — 26-12-1950.

Até o dia 13-12 os não tratados NÃO TINHAM TUMOR, dos 4 camondongos tratados 2 TINHAM TUMORES.

No dia 18-12 dos 5 não tratados 3 tinham TUMORES.

18-12 os 4 camondongos tratados TODOS SEM TUMOR.

26-12 1 não tratado morreu.

26-12 dos 4 não tratados restantes 2 tinham TUMORES, dos 3 tratados nenhum tinha tumor.

Resumo do lóte n.º 5

a) os NÃO TRATADOS:

1 camondongo morreu no dia 26-12 ..... (24 dias).
1 camondongo morreu no dia 27-12 ..... (25 dias).
2 camondongos vivem no dia 15-1-51 com tumor (44 dias).

b) dos 4 tratados vivem 4 no dia 6-2-51 ..... (66 dias).

2) Quanto a formação dos tumores:

TUMORES

Tratados	Não tratados
Até 13-12 . . 50 %	0 %
Até 26-12 . . 0 %	50 %
Até 15-1 . 33 1/3 %	100 %

Sexto lóte

10 camondongos inoculados em 2-1-51.
5 Testemunhas.
5 a serem tratados.

TABELA 7

Tratamento seguido no sexto lote de camondongos.

N.º de aplicações		Data	cc	min	Observações
v. s. Éter	1	3.1	2.0	16	
	2	4·1	3·0	16	
	3	8.1	3.6	10	
	4	9.1	2.4	10	
	5	10.1	2.7	10	Morreu um camondongo vermelho. Restam 4.
	6	11.1	1.0	10	
	7	15.1	1.7	10	
	8	16.1	1.0	10	
	9	17.1	2.4	10	
	10	18.1	2.2	10	
v. s. chloroformio	1	22.1	0.4	6 ½	
	2	23.1	0.5	18 ½	
	3	24.1	0.5	5	
	4	29.1	0.7	8	
	5	10.1	0.2	5	
	6	1·2	0.4	10	

17-1-51 verifica-se que dos NÃO TRATADOS TODOS TÊM TUMOR dos 4 tratados 3 TÊM TUMORES.

5 Camondongos não tratados inoculados no dia 2-1-51 e sem tratamento até o dia 22-1, receberam 6 aplicações de v. s. de chloroformio do dia 22-1 — 1-2. Um destes camondongos morreu por acidente. Dos 4 restantes 2 ficaram isentos de tumor, estando vivos até o dia 2-6-51 = 153 dias.

TUMORES

Tratados	Não tratados
Até 17-1-51 . 75 %	100 %

2.ª Fáse

Os camondongos NÃO TRATADOS de 2-1-51 — 22-1
Submetidos a v. s. de Chlorofórmio

TUMORES

Antes	Depois
100 %	25 %

COMENTÁRIOS

Poder-se-ia pensar que os resultados referidos não passassem de simples coincidência. Em favor disso lembrar-se-ia que em diversos camondongos não tratados não houve desenvolvimento de tumores. Por outro lado poder-se-ia pensar que outros fatores, alêm do tratamentos observados, fossem as causas do não crescimento dos tumores dos camondongos em que os inóculos não se desenvolveram. Os mesmos argumentos poderiam ser lembrados em relação ao critério da sobrevivência maior dos portadores de tumor quando êsses animais eram submetidos ao tratamento.

Entretanto constituem fatos que atestam o efeito antitumoral dos v.s. as seguintes observações:

No lóte 1, num dos camondongos, um mês depois da 14.ª inalação, o tumor regrediu e desapareceu definitivamente.

No lóte n.º 2, um dos animais, apesar de ter 7 inalações de éter, se apresentou com um tumor. Continuando o tratamento com v.s. de balsoforme, cerca de uma semana mais tarde o tumor começou a regredir, tendo desaparecido definitivamente com 10 aplicações deste anestésico.

Ainda nesse mesmo lóte convem lembrar o caso do camondongo n.º 4 que, após 11 inalações de éter e 12 de balsoforme, apresentou um tumor que regrediu completamente, para de novo tornar a crescer quando cessaram as inalações.

No lóte n.º 3 observou-se que dos 4 camondongos não tratados, que desenvolveram 4 tumores, ao serem submetidos a 6 inalações de v.s. de balsoforme e mais 6 inalações de v.s. de clorofórmio, um apresentou uma regressão e desaparecimento definitivo do tumor.

No lóte n.º 5, nos 4 camondongos tratados que apresentaram tumor deu-se primeiramente a regressão de 2 tumores com 5 inalações de v.s. de clorofórmio e depois a regressão dos outros 2 tumores, com 9 inalações. Cessado o tratamento, o tumor reapareceu apenas em 1 desses camondongos.

No lóte n.º 6, os 4 camondongos que, sem nenhum tratamento, apresentaram 4 tumores, foram submetidos a inalações de v.s. de clorofórmio. Num desses animais o tumor regrediu precocemente, desaparecendo completamente, e num outro o tumor regrediu mais tardiamente a ponto de não mais ser perceptivel. Atualmente esse tumor do segundo camondongo desapareceu de todo.

Considerando que todas as inoculações foram feitas em camondongos pertencentes a uma cepa consanguinea em que não se observam regressões espontâneas, é de admitir que os resultados referidos sejam efeito dos tratamentos realizados.

Muito deveria ser acrescentado para tornar mais produtivas estas experiências: adição de substâncias do sistema reticuloendotelial, combinando êste tratamento com aplicações de vitaminas e fortificantes; verificação do índice opsônico para melhor compreensão do mecanismo das aplicações do v.s. etc..

Faltam estudos que esclareçam a atividade do figado, verificando se os v.s. prejudicam esse órgão, como em geral acontece com os anestésicos aplicados á temperatura ambiente ou se — de conformidade com as idéias de TIEGEL — o figado e o sistema reticulo-endotelial são beneficiados pelas aplicações do v.s.. As experiências serão continuadas; no entanto julguei conveniente chamar quanto antes a atenção dos colegas para esta espécie de pesquizas porque continúo a julgar possivel que tais estudos abram caminho para uma nova arma contra o cancer.

Conclusões:

1) EM TODAS AS EXPERIÊNCIAS a porcentagem de tumores dos animais tratados foi menor do que nos não tratados.

2) EM TODAS AS EXPERIÊNCIAS o tempo de sobrevivência dos animais tratados com qualquer dos tipos de v.s. empregado foi decididamente maior.

SUMARY

After having verified temporary but very noteworthy improvements on 50 cancer-sufferers treated by overheated vapours (o. v.) of ether and balsoform and chloroform the author decided to examine the effectiveness of the different o. v. on mice. In all experiments the percentage of tumours in treated animals was smaller than in untreated animals, sometimes very much so (series N.º 3). In all experiments the period of survival was decidedly longer in animals treated by any of the o.v. applied. The author succeeded repeatedly to cause the disappearance

of tumours of untreated animals shortly before their death. The mice so treated continued to remain without tumours. Considering that all the inoculations were made in mice belonging to a pure strain in which no spontaneous involutions are observed it must be admitted that the above mentioned results are the effect of the treatments applied.

BIBLIOGRAFIA

1 — Tiegel M. — Gedanken zum Krebsproblem — *Ars Medici*, 10, 1948.

2 — Tiegel M. — Weitere Anregungen zum Krebsproblem — *Ars Medici*, 3, 1949.

3 — Tiegel M. — Weitere Wege der Krebsforschung — *Ars Medici*, 7, 1949.

4 — Treuherz, Walter — Nova tentativa de tratamento do cancer: inalação de vapor de éter superaquecido (v. s.). *Revista Paulista de Medicina* — Vol. 38, 2, Fevereiro 1951.

NEMATOIDES DAS RAÍZES ENCONTRADOS EM SÃO PAULO

POR

J. C. Carvalho

Do Instituto Biológico de São Paulo

Com 1 figura no texto

INTRODUÇAO E HISTORICO

Muitas plantas de importância econômica sofrem ataque de nematoides parasitas do sistema radicular, que causam graves disturbios à sua economia e influem desfavoravelmente em seu crescimento e produção. As plantas doentes apresentam, às vezes, amarelecimento ou murchamento das folhas, podendo mesmo morrer, quando ainda jovens; outras não mostram esses sintomas, notando-se apenas que são menores do que as sãs. O exame das raízes de tais plantas revelará, na maioria das vezes, a existencia de nematoides. Uns produzem galhas, mas outros não provocam a formação dessas nodosidades. São causadores de galhas as especies *Ditylenchus radicicola* (GREEFF) FILIPJEV, 1936, *Nacobbus dorsalis* THORNE & ALLEN, 1944 e *Meloidogyne* GÖELDI, 1887, constituindo este o grupo mais importante dos parasitas do sistema radicular, em nosso meio. Outros nematoides, tambem parasitas do sistema radicular, lesam as raízes mas não dão origem à formação de galhas.

A literatura atinente ao assunto revela-nos que *Meloidogyne* spp. e *Tylenchulus semi-penetrans* COBB, 1913, têm sido encontrados em nossas culturas, os primeiros parasitando numeroso grupo de plantas de varias familias, e o segundo em especies de *Citrus*. A primeira indicação da presença de vermes, no Brasil, data de 1878, quando JOBERT (7) encontrou um parasita nas raízes de cafeeiro da então Provincia do Rio de Janeiro. GÖELDI (5), chamado para estudar a doença, descreveu o patógeno sob o nome de *Meloidogyne exigua*, cujo genero depois passou a ser considerado sinonimo de *Heterodera*, tipo *H. schachtii* SCHMIDT, 1871. A especie *M. exigua* foi pela maioria dos autores considerada sinonimo de *Heterodera radicicola* (GREEFF, 1872) MÜLLER, 1884. Em 1932, GOODEY, mostrando que o nematoide descrito por GREEFF — *Anguillula radicicola* — causador de galhas em gramineas, não se relaciona com *Heterodera* ou *Meloidogyne*, colocou-o no genero *Anguillulina*. FILIPJEV transferiu-o depois para *Ditylenchus*. E a *Heterodera radicicola* deu-lhe GOODEY o nome *Heterodera*

marioni (CORNU, 1879) GOODEY 1932, para atender às regras de nomenclatura. Recentemente, porém, CHITWOOD (4) reexaminou o genero criado por GÖELDI, e baseando-se em caractéres morfologicos distintos de *Heterodera*, restabeleceu o genero *Meloidogyne*, ao qual pertencem as especies entre nós conhecidas pelo nome de *Heterodera radicicola* ou *Heterodera marioni*.

Em estudo realizado em São Paulo, Brasil, RHAM (9) observou numerosos nematoides de parasitismo duvidoso e alguns parasitas do genero *Tylenchus*. Plantas diversas, examinadas por técnicos da Secção de Fitopatologia do Instituto Biologico, São Paulo, Brasil, revelaram a presença de parasitas da raíz. Sob o nome de *Heterodera radicicola* CARNEIRO observou um parasita em raízes de algodoeiro (O Biologico, São Paulo, 1935, 1:143), em figueira (*ibid*, 1936, 2:440), e sob o nome de *Heterodera marioni*, em tomateiro (*ibid*, 1937, 3:387). Outros técnicos tambem observaram em plantas diversas um parasita sob o mesmo nome: DRUMMOND, em craveiro (O Biologico, São Paulo, 1937, 3:162), em soja (*ibid*, 1943, 9:105), em pepino (*ibid*, 1944, 10:84) e tremoço (*ibid*, 1949, 15:130); ARRUDA, em boca de leão (*ibid*, 1940, 6:381); GONÇALVES, em batatinha (*ibid*, 1940, 6:134) e em cafeeiro (*ibid*, 1942, 8:120); ROSSETTI, em quiabeiro silvestre (*ibid*, 1942, 8:93); ANDRADE, em salsão (*ibid*, 1944, 10:185) e em dália (*ibid*, 1944, 10:308); ABRAHÃO, em girassol (*ibid*, 1948, 14:148); CAMPACI, em alfalfa (*ibid*, 1949, 15:108). LEPAGE e GIANNOTTI (8), em jacatupê. O parasita *Tylenchulus semi-penetrans* foi encontrado somente em raízes de *Citrus*, por DRUMMOND (O Biologico, São Paulo, 1943, 9:366), P. V. C. BITTENCOURT (*ibid*, 1944, 10:47) e CARVALHO (2).

Verifica-se, pelos dados acima, que especies dos generos *Tylenchus*, *Tylenchulus* e *Meloidogyne* (*Heterodera marioni*) têm sido encontradas em nossas culturas. Dos outros nematoides parasitas das raízes não temos nenhuma referência quanto a presença ou a ausência. Com o fim de corroborar essas informações e amplia-las, iniciamos pesquisas que constaram de observações de todo o material que nos foi remetido do interior do Estado ou que conseguimos obter nos campos experimentais do Instituto Biológico ou em hortas e terrenos baldíos nas proximidades da Capital.

Notamos que na maioria das plantas examinadas havia formação de galhas e foi dessas que retiramos os parasitas para identificação. Não observamos galhas, porem, em raízes de milho, onde os parasitas só foram encontrados depois delas trituradas. Em cenoura retiramos parasitas, tanto do tuberculo como das raízes; em ambos havia formação de galhas.

Foram as seguintes as plantas que examinámos: Cafeeiro (*Coffea arabica* L), beterraba (*Beta vulgaris* L), espinafre (*Spinacia oleracea* L), sultana (*Impatiens sultani* HOOK), ameixeira (*Prunus domestica* L), pessegueiro (*Prunus persica* L), amoreira (*Rubus* sp.), couve (*Brassica oleracea* L), rabanete (*Raphanus sativus* L), cana de assucar (*Saccharum officinarum* L), trigo (*Triticum vulgare* VIL.), milho (*Zea mays* L), cenoura (*Daucus carota* L), batata doce (*Ipomaea batatas* LAM), abacaxí (*Ananas sativus* SCHULT, maracujá (*Passiflora alata* AIT), batatinha (*Solanum tuberosum* L), tomateiro (*Lycopersicum esculentum* L), fumo (*Nicotiana tabacum* L), pimenta (*Capsicum annuum* L), herva de bicho (*Solanum nigrum* L), beringela (*Solanum melongena* L), algodoeiro (*Gossypium herbaceum* L), quiabeiro (*Hibiscus esculentus* L), guaxuma (*Sida* sp.), *feijoeiro* (*Phaseolus vulgaris* L), ervilha (*Pisum sativum* L), guandú (*Cajanus indicus* SPRENG), amendoim (*Arachis hypogaea* L), alfalfa (*Medicago sativa* L), jacatupê (*Pachyrrhizus tuberosus* SPRENG), figueira (*Ficus carica* L), aboboreira (*Cucurbita maxima* DUCH), melancia (*Citrullus vulgaris* SCHRAD), pepino (*Cucumis sativus* L). Em todas essas plantas encontramos *Meloidogyne* parasitando as raízes ou partes subterraneas. Causou-nos surpresa o fato de não ter sido observado, em nossas plantações de batatinha, o nematoide *Heterodera rostochiensis* WOLLENWEBER, 1923, tão frequente nos campos europeus de onde vieram os tuberculos-sementes para essas plantações. Surpreendeu-nos igualmente não encontrar nenhuma outra especie de *Heterodera* em seus hospedeiros entre nós cultivados. Mesmo levando-se em conta que os tuberculos-sementes destinados à exportação nos países de origem sejam cuidadosamente examinados para receberem o certificado de sanidade, é inevitavel que eles transportem cistos e ovos capazes de infestar os terrenos ainda livres desse verme. A possibilidade de serem carreados cistos e ovos em pequenas porções de terra aderente à casca do tuberculo, principalmente nas depressões da gema, é tão manifesta que já constitue obrigatoriedade o seu exame para instruir o certificado de permissão de entrada em alguns países.

MATERIAL E TECNICA

Interessados como estavamos em esclarecer a duvida quanto à existencia da especie *H. rostochiensis* e de outras *Heterodera* em nossos campos de batatinha, providenciamos para a obtenção de regular quantidade de tuberculos das duas regiões produtoras mais importantes do Estado de São Paulo: — São João da Boa Vista e Monte-Mór.

Tivemos o cuidado de escolher os tuberculos "empipocados", como são conhecidos os que apresentam nodosidades, e plantas com raízes, para facilitar o trabalho de pesquisa. Dos campos dessas localidades trouxemos tambem amostras de terra, retiradas a 10 e 20 cm. de profundidade, para a pesquisa de cistos.

Examinámos todos os tuberculos sob lupa binocular, e com o auxilio de uma agulha histologica, fomos retirando as femeas jovens e maduras para serem depois observadas ao microscopio. O material restante dos nodulos foi esmagado e triturado em laminas e observado com fraco e forte aumento. Assim pudémos separar alguns machos e muitas larvas, não só dos tuberculos como das raízes examinadas.

As pesquisas de cistos no solo foram realizadas por meio do processo de flutuação, de MORGAN, que consiste em tomar 20 ou 30 cm^3 de terra, retirada do solo a uma profundidade de 10 a 20 cm, triturá-la, peneirá-la em malhas 1/60 de polegada, e em seguida despeja-la em vaso de gargalo fino, contendo 1.000 cm^3 de agua. Sacudir bem e depois que o material léve estiver à tona, despejá-lo em papel de filtro para a procura de cistos sob lupa binocular.

RESULTADOS

a) Exame dos tuberculos e raízes.

Dos tuberculos e raízes das duas regiões, isolámos numerosas femeas, jovens, maduras e larvas. Encontrámos machos em muito menor quantidade, como é normal. O exame das femeas e machos não deixou duvidas quanto a tratar-se de uma especie do genero *Meloidogyne,* tanto no material de São João como no de Monte-Mór. A femea tem o corpo piriforme ou em fórma de frasco, acompanhada, às vezes, da massa gelatinosa de ovos (Fig. 1 H), e apresenta um pescoço longo (Fig. 1 C, D), no qual se podem observar algumas vezes as estrias transversais. A parte posterior do corpo tem fórma arredondada e a vulva não é proeminente, sendo até dificil de observar, principalmente quando já existe a massa gelatinosa que envolve os ovos. Observamos que nas femeas jovens ha maior quantidade de globulos gordurosos, de côr parda, que se alinham demarcando divisões ao longo do corpo do verme (Fig. 1 A, B, C, E). Essas particulas gordurosas desaparecem com o crescimento do verme, que ao atingir completo desenvolvimento assemelha-se a pequena perola embutida nos tecidos da galha.

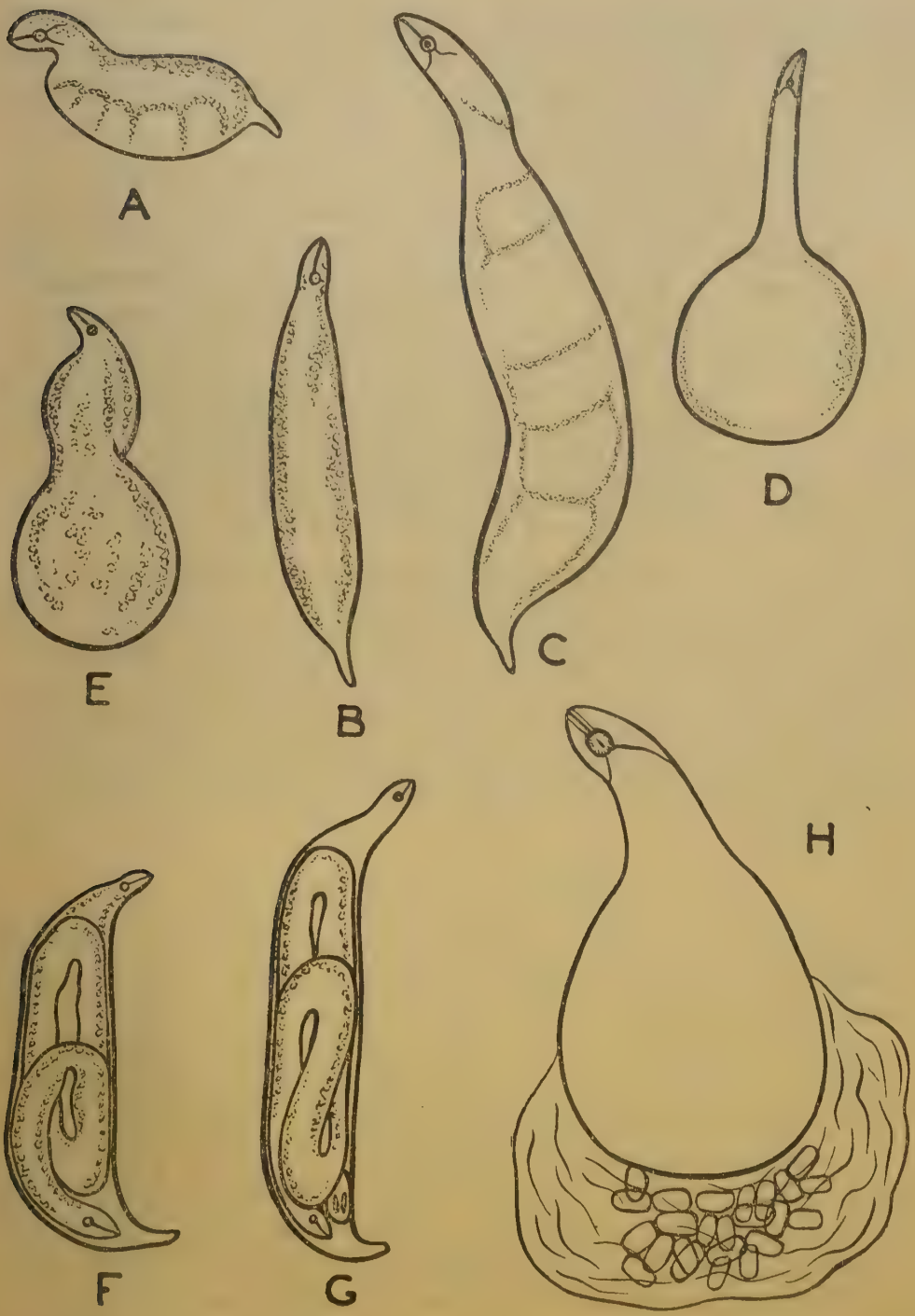


Figura 1 — *MELOIDOGYNE* sp. — Desenhos esquematicos mostrando as formas em evolução — A a E. 120 ×. F e G — machos. 120 × H. — Femea madura com saco de ovos. 80 ×.

Fizemos algumas medições de femeas maduras, tendo encontrado para as maiores uma media de 1,10 mm para o comprimento e 0,74 mm para a largura e 0,44 mm para a região do pescoço. Os machos variaram de 1,17 mm a 1,28 mm de comprimento. Corpo vermiforme, cauda curta e arredondada (Fig. 1 F, G).

b) Exame do solo.

As amostras de terra colhidas nos campos de batatinha de São João e Monte-Mór, tratadas pelo metodo de flutuação, de MORGAN, não revelaram a existencia de cistos. Os solos dos climas temperados, explorados com plantações de batatinha, em pouco tempo tornam-se altamente infestados de cistos. Estes cistos são as femeas cheias de ovos, cobertas, segundo CHATIN (3), por uma exudação da hipoderme, que protege o seu conteúdo por longo tempo, dando-lhes resistencia às condições adversas, como frio intenso, sêca prolongada, ou falta de hospedeiro.

Em todos os exames a que procedemos nas amostras de terra, observamos a presença de um corpusculo quasi esferico, de côr parda clara brilhante ou parda escura, de tamanho variavel, desde 0,10 a 0,50 mm. Esses corpusculos têm certa semelhança com os cistos de *H. rostochiensis;* mas devido à ausencia de qualquer estrutura interna, e ainda pelo fato de não ter sido encontrada essa especie em nossas culturas, acreditamos que tais corpusculos nenhuma relação tenham com ela.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Uma especie de *Meloidogyne* tem sido encontrada parasitando numerosas plantas cultivadas e nativas, em quasi todas as regiões deste Estado, independentemente das pequenas variações de clima que possa haver entre elas. O que parece influir desfavoravelmente no seu desenvolvimento é o longo periodo de sêca a que estão sujeitos os nossos solos, fato conhecido dos plantadores de batatinha, que por isso mesmo não receiam o ataque de nematoides às suas safras "da sêca". Estas, quando colhidas, revelam a quasi inexistencia do parasita, tão ínfimo é o numero de tuberculos "empipocados". Na colheita "das aguas" o quadro é inverso, pois grande é a porcentagem de tuberculos parasitados em quasi todas as culturas. Essa observação quanto à importancia da humidade na vida do verme corrobóra a opinião de GODFREY (6), de que o gráo de humidade do solo tem tanta influencia no desenvolvimento do parasita como no crescimento da planta.

Alguns pesquisadores acreditam que os solos léves favorecem o desenvolvimento das especies de *Heterodera,* e como prova afirmam que neles a doença é mais severa do que nos compactos. E um trabalho de TRIFFITT (10) revela que os solos leves ou medios são mais favoraveis ao desenvolvimento de *H. rostochiensis* do que os compactos. Como a maioria dos solos do Estado de São Paulo póde ser enquadrada nesses dois primeiros tipos, podemos concluir que eles são propicios à sua proliferação, a não ser que o gráo de humidade, ou a temperatura, não lhe sejam favoraveis. Quanto à humidade, somente a estação sêca poderá ser-lhe danósa, pois no periodo das aguas o solo estará em otimas condições para o seu desenvolvimento, como acontece normalmente com *Meloidogyne.*

Com relação à temperatura, BAUNACKE (1) achou que a eclosão dos ovos dos cistos inicia-se acima de 16° C, mas que a temperatura otima para a emergencia das larvas dos ovos, mantidos nos cistos, é de 25° C. Baseados nessa informação, podemos dizer que as regiões onde a batatinha é cultivada oferecem temperatura quasi ideal para o desenvolvimento das especies de *Heterodera,* pois a media anual oscila entre 20 a 22° C, e a media dos meses mais quentes poucas vezes excede a 26° C. Assim, vimos que o solo, o gráo de humidade e a temperatura não são desfavoraveis a esses parasitas, salvo no periodo de sêca, que vai de Junho a Setembro, quando o solo apresenta baixo gráo de humidade.

O verme *H. rostochiensis* é um parasita quasi exclusivo da batatinha; contudo ha na literatura indicações de sua infestação branda em raízes de tomateiro, herva de bicho (*Sol. nigrum*) e em uma Chenopodiacea (*C. album*). Desde que as pesquisas dos solos onde a batatinha tem sido cultivada e os exames das suas raízes não revelaram a existencia de cistos, seria excusado procurá-los em seus hospedeiros ocasionais. Por outro lado a inexistencia de cistos das outras *Heterodera,* verificada nos exames das plantas relacionadas e nas pesquisas do solo, vem confirmar a nossa suspeita de que tais parasitas ainda não existem em nossos solos. Cumpre-nos tomar precauções a fim de evitar a infestação desses terrenos por parasitas tão prejudiciais, principalmente *H. rostochiensis,* o "golden nematode" dos americanos, que ocasiona graves danos às culturas de batatinha e contra o qual os meios de combate são ainda tão precarios.

ROOT NEMATODES FOUND IN SÃO PAULO

Abstract

This paper gives the results of a study of root nematodes of several cultivated plants, with special reference to potato in the State of São Paulo. The earlier observations on the presence of the root nematode Meloidogyne sp. are confirmed by this present search. It is shown that Heterodera rostochiensis is absent in the soils where potato is growing. This species is unknown in this State.

Samples of soils from São João and Monte-Mór in this State, using Morgan's flotation method, were found free from cysts of Heterodera, but a great number of smaller bodies similar in shape and coloration to the true cyst of H. rostochiensis were present.

Although the origin of those small bodies remains obscure, it seems that they do not represent any stage of the cycle of H. rostochiensis.

BIBLIOGRAFIA

1 — Baunacke, W. 1922. Untersuchungen zur Biologie und Bekämpfung des Rübennematoden, *Heterodera schachtii* Schmidt. Arb. Biol. Reichanst. Sand-u-Forstw., 11 (3) :185-288.

2 — Carvalho, R. S. 1942. Sobre a ocorrencia de um nematoide nas raízes das plantas citricas. Rev. de Agricultura, 17: 347.

3 — Chatin, J. 1887. Sur les Kistes bruns de l'Anguillule de la beterave. C. R. Acad. Sci. Paris, 105: 130-32.

4 — Chitwood, B. G. 1949. "Root-knot Nematodes" — Part 1. A Revision of the Genus *Meloidogyne* Göeldi, 1887. Proc. Helminth. Soc. Washington, 16: 90-104.

5 — Göeldi, E. A. 1892. Relatorio sobre a molestia do cafeeiro na Provincia do Rio de Janeiro. Arq. Mus. Nac. 8.

6 — Godfrey, G. H. 1926. Effect of Temperature and Moisture on Nematode Root-knot. J. Agric. Res. 33 (3) :223-54.

7 — Jobert, C. 1878. Sur une maladie du caféier observée au Brésil. C. R. Acad. Sci., Paris, 87: 941-43.

8 — Lepage, H. S. e Giannotti, O. 1947. Notas sobre o combate ao nematoide da raíz pelo fumigante DD. O Biologico, São Paulo, 13: 123.

9 — Rham, G. O. S. B. 1929. Nematodes parasitas e semi-parasitas de diversas culturas do Brasil. Arq. Inst. Biologico, São Paulo, 2: 67-136.

10 — Triffitt, M. J. Further Observations on the Morphology of *Heterodera schachtii* with remarks on the Bionomics of a strain attacking Mangolds in Britain. J. Helminth., 7 (3) :119-40.

———o———

UMA NOVA ESPÉCIE DE AONIDIELLA (HOMOPTERA, COCCOIDEA, DIASPIDIDAE)

POR

A. da Costa Lima

Da Universidade Rural

Com 1 figura no texto e estampas 25 e 26

No material entomologico colhido pelo Naturalista do Museu Nacional Antenor de Carvalho sobre *Araucaria,* em Santa Catarina, ha um Diaspidideo algo diferente do que foi descrito em 1942 por LEPAGE como *Dynaspidiotus sanctadelaidae,* tambem encontrado sobre folhas daquela planta em São Paulo.

Procurando determinar o inseto, verifiquei tratar-se seguramente de uma *Aonidiella.*

Baseando-me nos trabalhos de Ferris (Atlas of the Scale insects), de MC KENZIE (1938 — The genus Aonidiella — Microentomology, 3 (1) ; 1946 — Supplementary notes on the genera Aonidiella and Parlatoria. IBID, 11(1) e de Balachowsky (1948 — Les Cochenilles, 4), pude facilmente chegar à conclusão de tratar-se de especie possivelmente nova, muito proxima de *A. orientalis* (NEWSTEAD, 1894).

Não havendo em nossa coleção exemplares desta especie, solicitei-os do Dr. W. J. HALL, Diretor do Commonwealth Institute of Entomology e grande autoridade em Coccideos.

A proposito dos exemplares de *A. orientalis,* que gentilmente me cedeu, e do material que lhe enviei, escreveu-me ele o seguinte:

> "I have now examined the specimens from *Araucaria brasiliensis* referred to in your letters 259 and 323 of the 22nd July and 23rd August respectively.
>
> I agree that your species is extremely close to *Aonidiella orientalis* Newstead but I would hesitate to assign it to this species because it differs from *orientalis* in two important respects:
>
> 1. The conspicuos clusters of ducts in the marginal area of the three prepygidial abdominal segments, that are so characteristic of *orientalis,* are either wanting or very poorly developed.
> 2. In the specimens before me there are only two plates, each with a single ensiform process, beyond the third pygidial lobes; in *orientalis* three such plates are present.
>
> There are other minor differences. For instance the length of the tubular ducts associated with the pores on the pygidium appear to be shorter than in typical *orientalis.*
>
> I believe your species to be different from but very near to *A. orientalis* and I enclose a small piece of material on *Ficus benghalensis* from the typical *orientalis* with your species".

Comparando os exemplares da nova especie de *Aonidiella* com os de *orientalis* e de *sanctadelaidae* (*), verifica-se que as 3 especies formam um grupo, com os seguintes caracteres comuns, separando-as das demais especies de *Aonidiella*: femea adulta piriforme, cefalotorax não envolvendo o pigidio e presença de placas (*pectinae*) cultriformes, lisas, de base alargada, para fora do 3.º lobulo.

Fig. 1 — Pygidium de *Aonidiella araucariae* n. sp.

Na nossa especie, como em *orientalis* e *sanctadelaidae*, ha grupos de poros perivulvares (glândulas circungenitais) e não ha longas parafises na margem pigidial. Nessas especies, porem, os 3 segmentos abdominais prepigidiais apresentam conspicuos agrupamentos de ductos, que não se encontram na nossa especie.

Aonidiella araucariae n. sp.

Alem dos caracteres anteriormente referidos quanto á femea adulta, ha ainda a considerar os seguintes, que não podem ser vistos nas figuras apresentadas: escudo circular, achatado, de côr cinza clara, algo transparente; exuvias larvais quasi centrais e de côr pardo-amarelada. Diametro pouco mais de 1,25 mm. Escudo dos machos

(*) Esta especie deve ser incluida em *Aonidiella*. Ferris considera *Dynaspidiotus* Thiem & Garnick, em duvida, sinonimo de *Octaspidiotus* Mc Gillivray. Parece-me, porem, que os dois generos não devem ser separados de *Aonidiella*.

de côr e estrutura identicas às da femea; exuvia excentrica. Comprimento pouco mais de 1 mm., por cerca de 0,75 mm. de largura.

Especie vivipara. Cuticula espessada até a base do pigidio. Póros perivulvares (glandulas circungenitais) dispostos segundo as formulas seguintes:

0	0	0	1	1	1
4 4	4 4	5 3	3 2	3 2	3 3
2 2	2 3	2 3	2 2	2 3	2 1

Material tipico, n.º 10.250, na coleção entomologica da Escola Nacional de Agronomia (Universidade Rural), sobre folhas de *Araucaria angustifolia* (*brasiliensis*); colhido no Parque Florestal do Instituto Nacional do Pinho, Treis Barras, Município de Canoinhas, Estado de Santa Catarina. Caixas 1423 e 1424 e laminas n.º 3350, 3392, 3393, 3400, 3588-3590.

Examinei tambem material identico, da Divisão de Defesa Sanitaria Vegetal (n.º 9034), sobre folhas da mesma planta, colhido em Canela (Rio Grande do Sul) por Erminio Goerger.

LEGENDA DAS FIGURAS

Figs. 1 e 2 — *Aonidiella araucariae* n. sp.

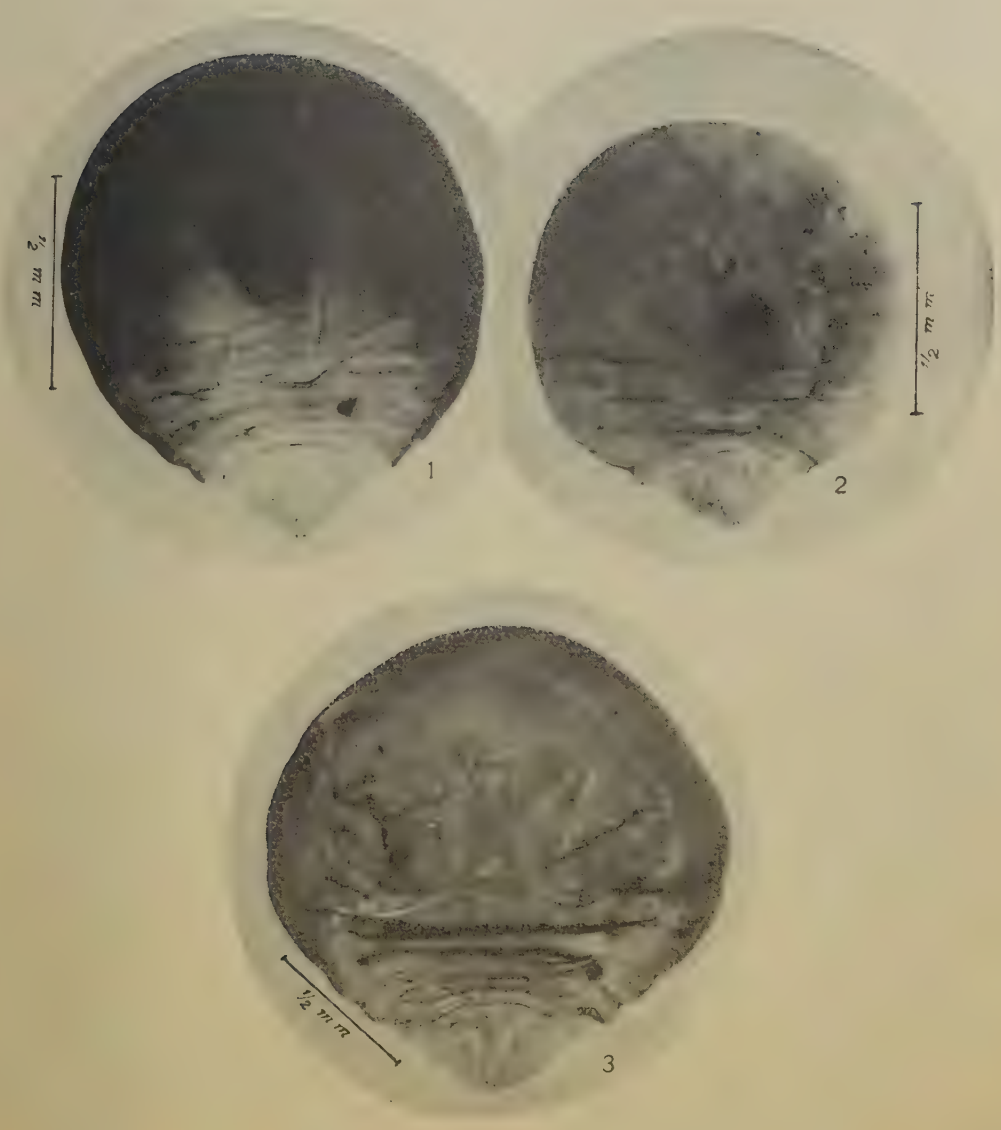
Fig. 3 — *Aonidiella sanctadelaidae* (Lepage, 1942). De um exemplar tipico da coleção H. S. Lepage.

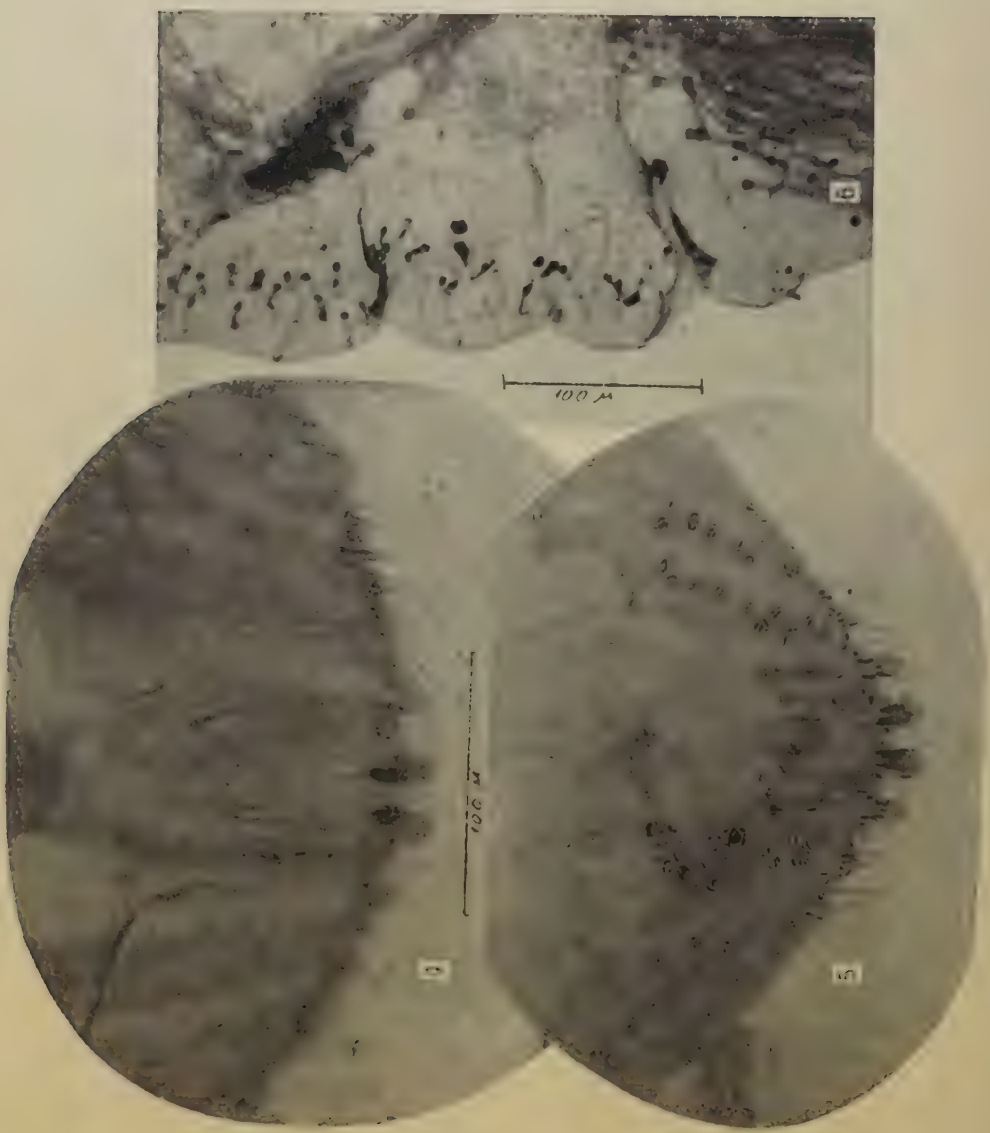
Fig. 4 — Margem do pigidio de *Aonidiella sanctadelaidae* (exemplar da fig. 3).

Fig. 5 — Idem, de um dos exemplares do material tipico (n.º 10.250) de *Aonidiella araucariae* n. sp.

Fig. 6 — Parte lateral dos 3 segmentos antepigidiais de um exemplar tipico de *Aonidiella sanctadelaidae*.
Pygidium de *Aonidiella araucariae* n. sp.
Fotomicrografias tiradas pelo Sr. C. Lacerda.

———o———


1/2 m m
1
1/2 m m
2
1/2 m m
3


100 μ
100 μ

DESENVOLVIMENTO DE PRINCÍPIOS ANTINEOPLÁSICOS EM LÍQUIDOS DE CULTURA DE P. NOTATUM, SEM ENXOFRE

POR

J. R. Meyer

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Em trabalhos anteriores tivemos ocasião de mostrar que o *Penicillium notatum*, cultivado em líquido de Czapek-Dox, desenvolve substâncias de efeitos antineoplásicos. KIDD (1947) demonstrou que em culturas de *Aspergillus fumigatus* tambem se observa uma propriedade antineoplásica e que ela é devida a uma substância denominada *gliotoxina*, em cuja molécula entra o enxofre. Sendo o líquido de *Czapek-Dox* rico em sulfatos, surgiu a hipótese de que a atividade verificada por nós tambem fosse devida à produção de *gliotoxina* nas culturas de *P. notatum*. Não podendo recorrer a processos de análise química para estudar o assunto, resolvemos abordar o problema de saber se nas culturas de *Penicillium notatum* o princípio ativo era idêntico, para o que fizemos este fungo desenvolver-se num meio em cuja composição não entrasse o enxofre.

Já anteriormente tinhamos indícios para admitir que não fosse a gliotoxina a causa das propriedades antineoplásicas das culturas de *P. notatum*, visto que, ao ser carbonisado com soda, o resíduo da evaporação dessas culturas ativas não desprende vapores com cheiro de chifre queimado, que caracterizam a presença da gliotoxina (Comunicação pessoal do Dr. JOHN G. KIDD, da Cornell University e do New York Hospital for Cancer Research de Nova York). Era de esperar, portanto, que, se fosse a gliotoxina a causadora da atividade citada, os meios de cultura sem enxofre em que se desenvolve o *P. notatum* não manifestassem efeito antineoplásico ou o manifestassem apenas ligeiramente, nos pedaços de tumor por êles tratados.

Foi isso o que procuramos verificar, realizando experiências em que faziamos espóros de *Penicillium notatum* desenvolverem-se sobre um líquido Czapek-Dox em que, em vez de sulfatos, empregavamos outros sáis com as respectivas bases metálicas, provando depois a sua atividade em pedaços de tumor transplantavel do camondongo e comparando os efeitos antineoplásicos com os das culturas da mesma idade, feitas sobre líquido de Czapek-Dox clássico.

Na experiência 1068 foram preparados dois meios de cultura com as seguintes composições:

Meio de Czapek-Dox		*Meio sem sulfatos*	
Salitre do Chile	3,00 grs.	Nitrato de sódio	3,00 grs.
Fosfato monopotássico ..	0,50 "	Fosfato monopotássico ..	0,50 "
Sulfato de magnésio	0,25 "	Cloreto de magnésio	0,25 "
Sulfato de ferro	0,01 "	Cloreto de ferro	0,01 "
Lactose	50,00 "	Sacarose	50,00 "
Tiamina	traços	Tiamina	traços
Água	1.000 ml	Água	1.000 ml

Depois de provada a inocuidade desses líquidos em fragmentos do tumor, sobre ambos foi semeada aproximadamente a mesma quantidade de uma velha cultura esporulada de *P. notatum.*

Quinze dias após a semeadura sobre o líquido de Czapek-Dox nota-se um micélio branco contínuo, tomando o líquido um matiz amarelado. Sobre o líquido sem sulfatos ha diversos micélios menores, descontínuos, com tendência a se retrairem, e de côr cinzenta; o líquido da cultura continúa praticamente incolor.

Com uma parte dos dois líquidos foram tratados dois grupos de fragmentos de tumor, em recipientes separados e levados à geladeira onde houve um contato durante 3 dias. Ao mesmo tempo pedaços do mesmo tumor foram tratados durante o mesmo período e à mesma temperatura, com solução salina isotônica. Os fragmentos foram depois inoculados separadamente em três grupos de cinco camondongos, com os seguintes resultados:

Nos 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo líquido de Czapek-Dox clássico, com 16 dias de cultura ..... 4 tumores

Nos 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo líquido sem sulfatos, com 16 dias de cultura ..... 0 tumores

Nos 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados por solução salina isotônica ..... 5 tumores

Como se vê, a atividade antineoplásica aos 16 dias de desenvolvimento do cogumelo foi quasi nula no líquido de Czapek-Dox e muito nítida no líquido sem sulfatos.

Com outras porções dos líquidos de cultura de 25 dias de desenvolvimento do *P. notatum* foram feitas novas inoculações (experiência 1071), obtendo-se os seguintes resultados:

Em 5 camondongos inoculados com pedaços de tumor tratados pelo líquido de Czapek-Dox clássico com 25 dias de cultura de *P. notatum* ..... 4 tumores

Em 5 camondongos inoculados com pedaços de tumor tratados pelo líquido sem sulfatos, com 25 dias de cultura de *P. notatum* ..... 3 tumores

Em 5 camondongos inoculados com pedaços de tumor tratados por solução salina isotônica ..... 5 tumores

Nesta inoculação os dados indicam que a atividade do líquido sem sulfatos foi menor do que na experiência anterior. Este fato é interessante porque demonstra que, apesar de ser mais precoce, a atividade não é estavel.

A prova do líquido sem sulfato foi renovada outra vez (exp. 1080) em que foram empregados novos meios de cultura tendo como sáis fornecedores de magnésio e de ferro, respectivamente o nitrato de magnésio na dóse de 0,25 gr e o citrato amoniacal de ferro na dóse de 0,01 gr por litro.

As culturas de *P. notatum*, de 15 dias de desenvolvimento nestes novos meios, mostravam os mesmos caracteres, havendo apenas a diferença de um desenvolvimento mais lento dos micélios, porisso que para semeaduras foi empregada uma cultura esporulada guardada sem precauções especiais durante mais de doze mêses.

Os resultados desta nova prova, feita com pequenas porções destes líquidos, foram os seguintes:

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pela cultura de 15 dias de *P. notatum* em líquido de Czapek-Dox ..... 2 tumores

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pela cultura de 15 dias de *P. notatum* em líquido sem sulfatos ..... 0 tumores

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados por solução salina isotônica ..... 5 tumores

Os mesmos líquidos dessa cultura, 31 dias mais tarde, forneceram novas amostras que, ensaiadas em novos fragmentos de tumor (exp. 1084), forneceram estes dados:

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo líquido de Czapek-Dox, onde o *P. notatum* cresceu durante 31 dias ..... 0 tumores

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo líquido sem sulfatos, onde o *P. notatum* cresceu durante 31 dias ..... 0 tumores

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados por solução salina isotônica ..... 5 tumores

Os números obtidos confirmam plenamente os resultados anteriores, induzindo a se admitir que o princípio ativo das culturas de *P. notatum* provavelmente não é a gliotoxina, porquanto este produto não se poderia formar, dada a ausência de enxofre nos líquidos onde cresceu o cogumelo.

DISCUSSÃO

A princípio poder-se-ia pensar que, apesar de terem sido empregados cloretos e nitratos para substituir os sulfatos, ainda existisse

enxofre nos meios de cultura, levado pela sacarose. Essa possibilidade é todavia muito pouco provavel, porquanto a quantidade de enxofre existente neste açucar era práticamente nula, por ter sido empregado um produto quimicamente puro.

É muito curioso o que se observa nessas culturas com o crescimento do próprio micélio de *P. notatum*. Esse crescimento, que no início é mais rápido, coincidindo com a atividade maior do líquido de cultura, logo depois se torna deficiente. Os micélios não se reunem formando um lençól contínuo como acontece no líquido de Czapek-Dox, mas tendem a se contrair, formando partes isoladas. Apesar desse crescimento deficiente do micélio, é provavel que continúe a haver produção de princípios antineoplásicos, pois que o líquido, depois de cessado o crescimento torna-se mais ativo, o que coincide com o aumento de uma coloração amarelo-pardacenta. A deficiência do crescimento do micélio nos meios sem sulfatos está possivelmente ligada à falta de substâncias necessárias ao seu desenvolvimento normal. Essa deficiência de crescimento póde ser devida à falta dos próprios sulfatos ou mesmo ao fato de ter-se desintegrado precocemente toda a sacarose nos primeiros dias de desenvolvimento. Esta hipótese é baseada na perda completa do sabor adocicado do meio de cultura, quando o micélio deixa de crescer. Outra possibilidade para explicar a deficiência do crescimento seria o aumento dos próprios agentes anti-neoplásicos que agiriam sobre o micélio impedindo o seu desenvolvimento.

Um detalhe que nos parece muito importante é que a atividade antineoplásica é maior quando o crescimento do micélio está em sua fase final. Esse fato nos induz a pensar que o princípio ou os princípios ativos sejam devidos a produtos de um metabolismo patológico do cogumelo. Essa possibilidade é digna de consideração, porquanto, se for confirmada, talvez possa conduzir à obtenção de novos antibióticos, partindo de cogumelos tidos como inativos, deste ponto de vista, procurando sua atividade em meios menos favoraveis ao seu metabolismo.

SUMÁRIO

As experiências acima indicadas mostram que o princípio antineoplásico que se forma nas culturas de *P. notatum* muito provavelmente não é a gliotoxina, porquanto aparece quando o cogumelo é cultivado em líquidos onde práticamente não existe o enxofre. Êsse princípio forma-se rápidamente nos meios de cultura contendo sacarose e sua atividade é máxima depois que cessa o crescimento, quando desaparece a sacarose.

DELOPMENT OF ANTINEOPLASTIC ACTIVITY IN CULTURE OF PENICILLIUM NOTATUM CULTIVATED ON A NUTRITIVE MEDIUM DEPRIVED OF SULFUR

Abstract

As the antineoplastic activity of culture media on which Aspergillus fumigatus had grown was due to gliotoxin, it was supposed that the same substance was responsible for the antineoplastic action of the Czapek-Dox medium on which Penicillium notatum was cultivated. As gliotoxin has a molecule in which sulfur exists, P. notatum was cultivated on nutritive solutions without sulfates in order to avoid its formation. The fact that cultures on nutritive solutions without sulfates show the same antineoplastic activity is taken as an evidence that in this case gliotoxin is not the substance responsible for the antineoplastic activity.

BIBLIOGRAFIA

JOHNSON, MC CRONE e BRUCE — 1944 — Gliotoxin, the antibiotic principle of "Gliocladium fimbriatum" — Journ. Am. Chem. Soc. **66** : 501.

MENZEL, WINTERSTEINER e HOOGERHEIDE — 1944 — The isolation of gliotoxin and fumigacin from culture filtrates of "Aspergillus fumigatus". Jour. Biol. Chem. **152** : 419.

DUTCHER, J. D., JOHNSON, J. R. — 1945 — Gliotoxin. The nature of the sulphur linkages. Jour. Am. Chem. Soc. **67** : 1736.

KIDD, J. G. — 1947 — Effects of an antibiotic from "Aspergillus fumigatus" on tumor cells in vitro and its identity with gliotoxin. Science. **105** : 511.

———o———

ATIVIDADE ANTINEOPLÁSICA DO LÍQUIDO DE CULTURA DE UM COGUMELO DO GÊNERO PESTALOZZIA — DEMONSTRADA "IN VITRO" SÔBRE UM TUMOR TRANSPLANTAVEL DE CAMONDONGO

POR

J. R. Meyer

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Com a estampa 27

Em 1948, tentando obter culturas de *Polyporus cinnabarinus*, obtivemos, por contaminação acidental, um cogumelo que dava ao meio nutritivo a propriedade de neutralizar a atividade neoplásica de um tumor transplantavel do camondongo.

O líquido de cultura onde crescera esse cogumelo tinha a seguinte composição:

Nitrato de cálcio	1	gr.
Fosfato de potássio monobásico	0,25	"
Sulfato de amônea	0,5	"
Sulfato de magnésio	0,25	"
Açucar	20,0	"
Sulfato ferroso	0,05	"
Água	1.000	

Depois de preparada, essa solução era ajustada a um pH = 7,0 esterilizada e semeada com os espóros de *P. cinnabarinus* que se demonstraram contaminados.

O cogumelo da contaminação formava um micélio esbranquiçado e espesso sobre o líquido de cultura, e a partir da 3.ª semana de desenvolvimento, em temperatura ambiente, apresentava na superfície pequenos pontos negros de 1 a 2 mm. de diâmetro. Êsses pontos negros, de aspecto úmido, examinados ao microscópio, mostravam-se formados por grandes agrupamentos de espóros fusiformes de côr parda, tendo o corpo transversalmente septado, a parte central mais espessa, e nas extremidades, um, dois ou três flagelos imoveis.

O líquido de cultura adquiria ligeira coloração amarelo-pardacenta quando os espóros estavam desenvolvidos, e nessas condições apresentava uma reação ligeiramente ácida (pH = 6,8).

Tendo verificado que depois de 3 semanas de desenvolvimento do fungo o líquido se mostrava capaz de tornar completamente inativos os pedaços de adenocarcinoma transplantavel, nele deixados du-

rante 72 horas, realizamos diversas séries de experiências tendentes a confirmar o fato, como adiante se vê.

A primeira preocupação, porém, depois de notada a atividade antineoplásica citada, consistiu em verificar se o simples líquido de cultura empregado tinha ou não essa atividade.

Para isso foi realizado o seguinte ensáio:

Experiência 895 — Uma amostra do cogumelo em apreço foi semeada em diversos balões contendo cerca de 100 cc do líquido de cultura, enquanto noutro balão se conservava a mesma quantidade de líquido sem semeaduras. Ao cabo de 3 semanas, quando os micélios já mostravam franco desenvolvimento de espóros, de dois balões foram retiradas as quantidades necessárias do líquido de cultura e, em cada amostra de líquido, colocados cinco pedaços de tumor. Os líquidos com os pedaços de tumor foram deixados na geladeira durante 72 horas. Posteriormente os pedaços de tumor foram inoculados em dois lótes de camondongos normais. Os resultados dessas inoculações foram os seguintes:

Em 10 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo líquido onde crescera o cogumelo durante 3 semanas ..... nenhum tumor

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo líquido de cultura onde não fôra semeado o cogumelo ..... 2 tumores

Essa verificação foi repetida mais tarde com novas culturas (exp. 1052) confirmando-se os resultados encontrados no primeiro ensáio, como se vê a seguir:

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo meio de cultura não semeado ..... 3 tumores

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos do mesmo tumor, tratados pelo meio de cultura ..... 4 tumores

Esses números indicam que o líquido por si só não é capaz de destruir toda a atividade neoplásica do tecido tumoral. Este mesmo ensáio, repetido outras vezes, deu resultados passiveis da mesma interpretação.

Confirmada que foi a inatividade do simples líquido usado para cultivar o cogumelo, a atividade antineoplásica desenvolvida após o crescimento do cogumelo foi objéto de experiências sistemáticas, resumidas no quadro n.º 1. Nas inoculações reunidas nesse quadro obedecemos sempre à seguinte técnica:

Tomavamos um tumor em pleno desenvolvimento, dele retiravamos fragmentos de 3 a 5 mm de diâmetro. Os fragmentos eram divididos em 2 lótes dos quais um era destinado a servir como testemunha e outro servia às verificações da atividade em questão.

Ambos os lótes eram mergulhados respectivamente em certo volume de líquido de cultura e em solução salina isotônica, dentro de pequenos recipientes de vidro, os quais eram levados a uma geladeira onde permaneciam durante 72 a 90 horas, numa temperatura de 4°C, para depois serem inoculados separadamente em dois lótes de camondongos normais.

QUADRO N.º 1

Mostrando a atividade antineoplásica do líquido onde cresceu o cogumelo

Exps.	N.º de camond. enxertados c. material trat. pelo liq. cult.	N.º de tumores obtidos	Atividade anti-neoplásica	N.º de camond. enxertados c. tumores trat. por sol. salina	N.º de tumores obtidos nos testemunhas	Tempo de cultura em dias
986	10	0	100%	10	8	7
987	10	0	100%	10	1	12
988	10	0	100%	10	8	17
989	10	0	100%	10	7	31
990	10	0	100%	10	9	52
991	10	2	80%	10	0	73

O quadro n.º 1 mostra que a atividade antineoplásica desenvolvida pelo crescimento do cogumelo começa a aparecer no sétimo dia de cultura e persiste até o quinquagésimo segundo dia. No setuagésimo terceiro dia de desenvolvimento a atividade antineoplásica que até antes fôra de 100% baixou a 80%, possivelmente por ter a parte ativa sofrido alteração.

Ainda em 1950, um ano mais tarde, o fungo, mantido vivo mediante transplantes sucessivos, foi novamente provado quanto à capacidade de desenvolver princípios antineoplásicos, numa nova série de ensáios resumidos no quadro n.º 2.

QUADRO N.º 2

Repetição das verificações do quadro anterior com novas culturas de cogumelo

Exps.	N.º de camond. enxertados c. material trat. pelo liq. cult.	N.º de tumores obtidos	Atividade do líquido	N.º de camond. enxertados c. tumores trat. por sol. salina	N.º de tumores obtidos nos testemunhas	Tempo de cultura em dias
1020	5	0	100%	5	4	20
1022	10	0	100%	10	8	27
1025	5	0	100%	5	5	40
1027	8	1(*)	72%	8	7	55
1028	6	0	100%	6	5	32
1029	7	0	100%	6	4	67

(*) O tumor em questão só se manifestou cerca de 2 mêses depois da inoculação, assim demonstrando certa dificuldade de crescimento.

Na experiência 1028 o único tumor resultante e desenvolvido tardiamente póde ser explicado pela persistência de algumas células no centro de um fragmento maior, não atingidas pelo líquido ativo. Isso acontece ocasionalmente quando os pedaços tratados teem mais de 5 mm de diâmetro.

Com essa série de experiências, mais uma vez se confirma a atividade antineoplásica do líquido onde cresceu o cogumelo e a possibilidade que êsse cogumelo tem de manter durante mêses, por meio de transplantes sucessivos em meio sólido, o seu poder de desenvolver produtos de ação antineoplásica, ao ser transplantado a meios de cultura líquidos.

A permanência do efeito antineoplásico nas culturas mais velhas tambem constituiu objéto de verificação.

Na experiência 1051 tomamos uma cultura de 74 dias de desenvolvimento. O líquido foi filtrado e usado para tratamento de 5 pedaços de tumor. Outros 5 pedaços do mesmo tumor foram postos em solução salina. Ambos os lótes foram deixados à temperatura da geladeira e inoculados separadamente em 2 lótes de camondongos, dando os seguintes resultados:

Nos 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratado por líquido de cultura de 74 dias de desenvolvimento	3 tumores
Nos 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados por solução salina	5 tumores

Vê-se que aos 74 dias uma parte da atividade antineoplásica se perdeu espontâneamente.

II — Outro ponto interessante a ser verificado era o de saber si a atividade do líquido onde crescera o cogumelo se conservava mediante o tratamento pelo calor. Para isso foi feito o seguinte ensáio:

Ensáio 1027 bis — Um líquido onde o cogumelo se havia desenvolvido durante 40 dias foi dividido em 2 porções. A primeira foi submetida a fervura durante 3 minutos, e resfriada. A segunda foi mantida à temperatura ambiente. Num terceiro recipiente foi posta certa quantidade de solução salina isotônica. Nesses 3 líquidos foram colocados fragmentos de tumor que aí ficaram mergulhados durante 48 horas à temperatura de 4ºC. Depois desse tratamento os fragmentos foram inoculados separadamente em três lótes de camondongos, fornecendo os seguintes resultados:

Em 10 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo líquido onde se desenvolvera o cogumelo não fervido não se desenvolveu ..	nenhum tumor
Em 10 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo líquido onde se desenvolvera o cogumelo e que depois foi fervido, desenvolveu-se	1 tumor

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados por solução salina desenvolveram-se ..... 5 tumores

Pelo que se vê, a primeira impressão é de que o calor destroi pequena parte da atividade antineoplásica do líquido onde cresceu o cogumelo. Como êsse único tumor podia explicar-se por não ter havido tempo de penetração do líquido ativo na parte central do fragmento que o originou, e isso por ter sido o tratamento feito apenas durante 48 horas, êste ensáio foi repetido mais uma vez do modo seguinte:

Ensáio 1029 bis — Como no ensáio anterior, foram utilizados 3 lótes de pedaços de tumor postos respectivamente (1.º) num líquido onde crescera o cogumelo, não fervido; (2.º) no líquido em que crescera o cogumelo e fervido durante 3 minutos; (3.º) em solução salina. No líquido de cultura o cogumelo havia crescido durante 67 dias. O contáto entre os fragmentos e os líquidos foi mantido na geladeira a 4ºC e durou 60 horas. Os resultados foram estes:

Em 7 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo líquido da cultura não fervido nenhum tumor

Em 7 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo líquido da cultura fervido nenhum tumor

Em 6 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados por solução salina ..... 4 tumores

Na experiência 1051 bis tomamos um líquido de cultura onde o cogumelo se desenvolvera durante 74 dias. Êsse líquido, filtrado, fervido foi usado para tratamento de 5 pedaços de um tumor que tambem forneceu 5 pedaços para serem postos em solução salina. Depois do contáto do tecido tumoral com esse líquido, na geladeira, durante 83 horas, as inoculações resultaram no seguinte:

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados com líquido de cultura de 74 dias, fervido 2 tumores

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados por solução salina ..... 5 tumores

Estes resultados, combinados com os do ensáio anterior, indicam que a resistência ao calor, do princípio ou princípios antineoplásicos que se desenvolvem no líquido mediante a cultura do cogumelo, não é grande. Essa resistência é todavia maior que a que se verifica nos líquidos de cultura de outros cogumelos de propriedades idênticas, como *Penicillium notatum, Aspergillus flavus,* ou os extratos de *Polyporus cinnabarinus.*

III — Outro ponto interessante era verificar si, após a evaporação da água, o líquido ativo deixava um resíduo seco e soluvel que demonstrasse a mesma atividade antineoplásica. Este ponto foi verificado num ensáio que obedeceu aos detalhes seguintes:

Experiência 1031 bis — 50 cc de líquido onde o cogumelo se havia desenvolvido durante 71 dias foram filtrados e secados durante 24 horas sobre uma cápsula de porcelana numa estufa a 40°C. No fundo da cápsula ficou um resíduo amarelado que foi tratado por 20 cc de solução salina. O resíduo se dissolveu em parte quando filtrado através de papel, dando uma solução amarela e transparente. Nessa solução foram postos 10 fragmentos de tumor. Ao mesmo tempo foram postos 9 fragmentos do mesmo tumor num outro recipiente contendo solução salina. Os dois lótes de fragmentos foram deixados a 4°C, durante 3 dias e, em seguida, inoculados separadamente em dois lótes de 10 camondongos, com os resultados que se seguem:

Nos 10 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo material obtido depois de secado o líquido onde crescera o cogumelo, desenvolveram-se 7 tumores

Nos 9 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pela solução salina desenvolveram-se .... 8 tumores

Esses números indicam que pelo aquecimento demorado, a 40°C, houve grande perda da atividade antineoplásica. Considerando-se que com 67 dias de cultura êsse líquido se mostrava 100% ativo (exp. 1.029 quadro n.° 2), conclue-se que êle perdeu grande parte da sua atividade antineoplásica.

IV — Pareceu-nos tambem interessante saber si o mesmo cogumelo produzia os princípios antineoplásicos quando cultivado num líquido em que como hidrato de carbono entrasse a lactose em lugar da sacarose.

Depois de provada a inatividade de um meio de cultura preparado com lactose (exp. 1052), foi êle semeado com o cogumelo em apreço. Seu desenvolvimento foi muito mais lento do que no líquido preparado com sacarose. Sómente cerca de um mês e meio após a semeadura é que havia um micélio bem desenvolvido, mas ainda sem início de esporulação.

Na *experiência 1058* tomamos pedaços de um tumor e os dividimos em dois grupos. O primeiro foi posto num líquido de cultura com lactose, sobre o qual o cogumelo se desenvolvera durante 41 dias. O segundo grupo de pedaços de tumor foi posto em solução salina isotônica. Depois de um contáto de 3 dias à temperatura da geladeira, foi feita a inoculação desses pedaços, com os resultados que se seguem:

Em 5 camondongos inoculados com pedaços de tumor tratados por líquido de cultura com lactose, no 41.° dia de desenvolvimento do cogumelo, desenvolveram-se 2 tumores

Em 5 camondongos inoculados com pedaços do mesmo tumor, tratados por solução salina, desenvolveram-se 5 tumores

Pelos dados obtidos se vê que a propriedade antineoplásica é menor quando o cogumelo é cultivado em meio tendo lactose em vez de sacarose.

Supondo que a atividade baixa estivesse ligada à falta de desenvolvimento do cogumelo que ainda não mostrava sinais de espóros, repetimos a experiência com o mesmo líquido, duas semanas mais tarde, isto é, quando a cultura contava 55 dias de desenvolvimento e já começava a apresentar um início de esporulação.

Nessa experiência (exp. 1059) os resultados foram estes:

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados por líquido de cultura com lactose, onde o cogumelo se desenvolvera durante 55 dias não se desenvolveu ..... nenhum tumor

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados por solução salina isotônica desenvolveram-se 5 tumores

Esses números evidenciam que a lactose é um hidrato de carbono desfavoravel ao desenvolvimento da substância que desempenha ação antitumoral.

Afim de saber si o líquido estudado exercia o seu efeito antineoplásico quando injetado em camondongos portadores de tumor, foi primeiramente verificado que os camondongos podiam receber durante 5 a 8 dóses diárias de 1 ml do líquido em que crescera o cogumelo. Com essas dóses os animais não apresentaram sinais de intoxicação.

Porisso foi realizada a experiência que se segue:

Experiência 1042 — 10 camondongos são enxertados com fragmentos de tumor ativo. 5 camondongos são conservados como testemunhas, sem receber nenhum tratamento. Os outros 5, em 3 dias seguidos, recebem respectivamente 0,5 a 1 ml do líquido onde se desenvolvera o cogumelo. As injeções foram feitas duas vezes sob a péle do dorso e uma vez no peritônio. Os resultados foram os seguintes:

Nos 5 camondongos enxertados, sem nenhum tratamento posterior desenvolveram-se ..... 3 tumores

Nos 5 camondongos enxertados e depois injetados com o líquido onde crescera o cogumelo desenvolveram-se 3 tumores

Os números registrados mostram que os efeitos antineoplásicos *in vitro* não se manifestaram pelo tratamento *in vivo* feito nas condições descritas.

Pelos dados registrados podemos dizer que mais um cogumelo acaba de ser encontrado, que demonstra a mesma capacidade de conferir ao líquido onde foi cultivado, propriedades antineoplásicas semelhantes às já descritas.

DISCUSSÃO

A capacidade que teem certos cogumelos de conferir aos líquidos de cultura onde crescem a propriedade de anular a atividade neoplásica de tumores transplantaveis não é fato novo.

Tambem foi verificada em 1944 por CORNMAN, com o líquido de cultura onde havia crescido o *Penicillium notatum*, quando fazia êsse líquido agir sobre culturas de fragmentos de tumor, "in vitro".

Em 1945 tivemos ocasião de publicar verificações semelhantes, trabalhando com pedaços de um tumor transplantavel do camondongo, provando o efeito antineoplásico mediante enxerto dos pedaços submetidos a tratamento.

Em 1946, demonstrámos o mesmo efeito em extrátos aquosos das frutificações do *Polyporus cinnabarinus*, cogumelo que tambem se mostrava capaz de produzir antibioticos bacterianos.

No ano seguinte, utilizando "Aspergillus fumigatus", KIDD demonstrou que os líquidos de cultura desse fungo tambem adquiriam propriedades antineoplásicas quando o tratamento do tumor era feito "in vitro". No seu trabalho, êsse autor atribui a atividade antineoplásica à gliotoxina formada como produto de metabolismo do cogumelo.

Nesse mesmo ano (1947) tivemos oportunidade de verificar o mesmo fenómeno nos líquidos de cultura de *Aspergillus flavus, Link.*

A gliotoxina a que KIDD atribuiu os efeitos antineoplásicos, segundo comunicação pessoal, é uma substância sulfurada que ao ser aquecida numa cápsula de porcelana com pequena quantidade de sóda, desprende um cheiro semelhante ao do chifre queimado. Fazendo um ensáio para a verificação dessa substância em resíduos secos de numerosas amostras de líquidos de cultura ativos, do cogumelo com que trabalhámos, notamos apenas o desprendimento de um leve cheiro empireumático, lembrando ligeiramente o de açucar queimado. Isso nos leva a pensar que em nossas experiências não foi a gliotoxina a substância causadora dos efeitos antineoplásicos observados.

A questão dos hidratos de carbono que entram nos meios de cultura tambem constitui fato de grande interesse prático, porquanto estando êsses hidratos de carbono intimamente ligados ao aparecimento do princípio antineoplásico, levam a pensar que esses princípios ativos provavelmente derivem da glicose. As mesmas atividades antineoplásicas demonstradas nas culturas de *P. notatum* sobre o líquido de Czapek-Dox, provavelmente tambem decorrem de derivados da glicose.

Essas propriedades antineoplásicas de culturas de cogumelos, por óra só se têm demonstrado quando o tratamento dos pedaços de tumor é feito "in vitro". Nas experiências "in vivo", tratando os animais portadores de tumor por injeções dos líquidos de outros cogumelos, do ponto de vista da atividade antineoplásica, os resultados tambem são precários.

A razão ou as razões dêsse fato ainda não são bastante claras. Pelo menos em parte parece que o fenômeno está ligado à combinação das substâncias ativas com as proteínas do organismo, o que as impede de atuar sobre os elementos neoplásicos.

Contudo os fatos observados não deixam de ter certo interesse, porquanto indicam uma propriedade que, se não é geral, talvez seja mais comum do que se pensa. E' a capacidade de cogumelos produzirem substâncias que destróem as células neoplásicas, quando tais cogumelos são cultivados em líquidos apropriados.

Do que ficou registrado é possível esperar que o assunto seja futuramente objéto de novas pesquizas, de que resultem efeitos mais intensos sobre animais portadores de tumor, pela concentração ou pela separação dos princípios que agem tão nitidamente nas experiências "in vitro", ou pela descoberta de novos cogumelos capazes de produzir substâncias mais ativas do ponto de vista considerado.

RESUMO

O presente trabalho refere-se à verificação de propriedades antineoplásicas num líquido de cultura onde se desenvolvera um cogumelo do genero *Pestalozzia*. Essas propriedades foram demonstradas por meio de tratamento, "in vitro", de pedaços de um adenocarcinoma transplantavel do camondongo. As propriedades em questão começam a aparecer no 7.º dia de cultura e persistem até mais de 50 dias. O calor altera parte da atividade antineoplásica. As experiências de tratamento de camondongos portadores de tumor pelo líquido ativo "in vivo", assim como colhido nas culturas, não produziram resultados apreciáveis. A pesquiza de gliotoxina nos líquidos de cultura não deu resultados positivos, tudo fazendo supor que o princípio ativo seja uma substância derivada de hidratos de carbono.

ANTINEOPLASTIC ACTIVITY OF A FLUID CULTURE OF A FUNGUS OF THE GENUS «PESTALOZZIA»

Abstract

This paper refers to the appearance of an antineoplastic activity in a fluid culture medium where spores of a fungus (Pestalozzia sp.) are cultivated. This property is demonstrated by the

treatment "in vitro" of small pieces of a mammary adenocarcinoma, before transplantation, with the culture medium on which the fungus had developed. This treatment was accomplished during 72 hours at a temperature of 4°C. The antineoplastic activity commences when the cultures are about seven days old and is maintained in a high level up to approximately the fiftieth day. The treatment of the active fluid with temperatures of 100°C, destroys its antineoplastic property. Experiments consisting in injecting the active liquid in mice bearing the tumor showed no conspicuous effects on the further development of the tumors. The test to ascertain the presence of gliotoxin in the active fluid gave no positive results. A number of evidences suggest that this antineoplastic activity is possibly due to a substance resulting from the carbohydrates used in the culture medium.

BIBLIOGRAFIA

1. Cornman, J. — 1944 — Survival of normal cells in penicillin solutions lethal to malignant cells. *Science*, **99** : 247 a 248.

2. Meyer, J. R. — 1945 — Indícios da existência de uma substância antineoplásica formada nos líquidos de cultura de "Penicillum notatum". *Arq. do Instituto Biológico de S. Paulo*, **16** : 307 a 314.

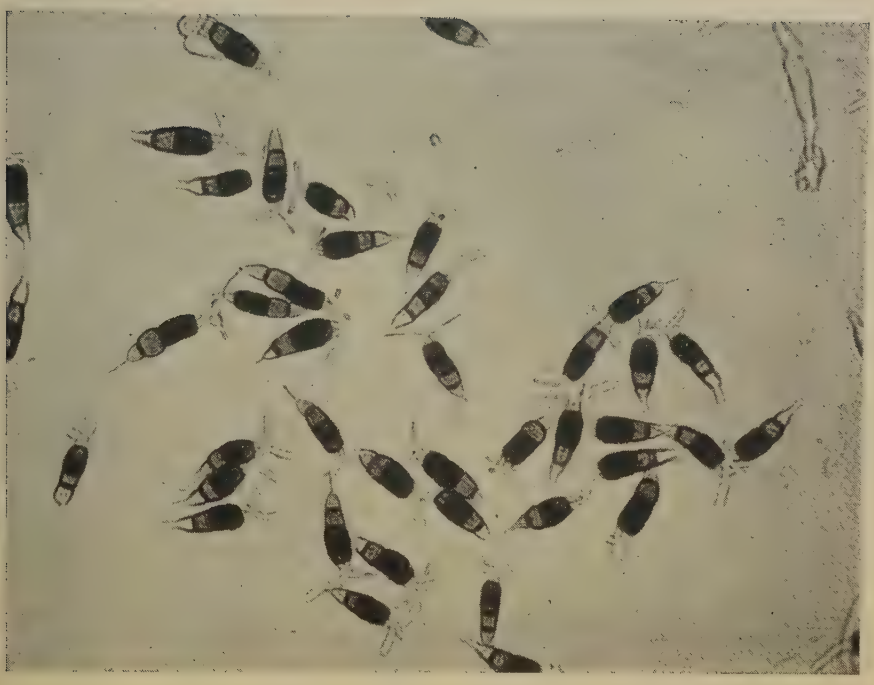
3. Meyer, J. R. e Cerruti, H. — 1946 — Ação antineoplásica dos extrátos aquosos de "Polyporus cinnabarinus" demonstrada "in vitro" com um tumor transplantavel do camondongo. *Arq. do Instituto Biológico de S. Paulo*, **17** : 175 a 181.

4. Meyer, J. R. — 1947 — Ação antineoplásica dos filtrados de cultura de "Aspergillus flavus, Link" demonstrada "in vitro" sobre um tumor transplantavel de camondongo. *Arq. do Instituto Biológico de S. Paulo*, **18** : 239 a 242.

5. Kidd, J. G. — 1947 — Effects of an antibiotic from "Aspergillus fumigatus" on tumor cells "in vitro" and its identity with gliotoxin. *Science*, **105** : 511 a 513.

6. Freeman, G. G. e Mc Pherson, C. S. — 1949 — Studies on metabolic products of "Penicillium luteum". *Biochem. Jour.*, **45** : 179 a 182.

———o———



Microfotografia de esporos desenvolvidos sobre o micelio do cogumelo, a partir da segunda semana de cultura.

IMPORTÂNCIA DA SACAROSE PARA O DESENVOLVIMENTO DA AÇÃO ANTINEOPLÁSICA NOS LÍQUIDOS DE CULTURA DE UM COGUMELO

POR

J. R. Meyer

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Tendo verificado, num líquido de cultura de cogumelos preparado com sacarose(*), que um cogumelo do genero *Pestalozzia* sp. ao qual daremos o nome de cogumelo X, produzia rapidamente princípios de ação antineoplásica, resolvemos verificar se tais princípios tambem se formavam quando esse cogumelo crescia em líquido de Czapek-Dox, ora preparado de acordo com a fórmula clássica, ora segundo uma fórmula em cuja composição a lactose era substituida pela sacarose.

Os dois líquidos usados nessas experiências tinham as seguintes composições:

	Líquido de Czapek-Dox clássico	Líquido modificado
Salitre do Chile	3,0 grs.	3,0 grs.
Fosfato monopotássico	0,50 "	0,50 "
Sulfato de magnésio	0,25 "	0,25 "
Sulfato de ferro	0,01 "	0,01 "
Lactose	50,0 "	—
Sacarose	—	50,0 "
Tiamina	traços	traços
Água	1.000 ml.	1.000 ml.

Ambos foram submetidos préviamente a uma prova destinada (Exp. 1060) a eliminar uma possivel atividade antitumoral. Nessa prova foram tomados fragmentos de um adenocarcinoma transplantavel de camondongo e deixados separadamente em contáto com as amostras dos dois líquidos, dentro de pequenos frascos conservados na temperatura da geladeira (4°C) durante 3 dias. Fragmentos do mesmo tumor foram tratados num terceiro frasco, durante o mesmo tempo e no mesmo local da geladeira, por uma solução salina isotônica.

Após esse contáto os fragmentos foram inoculados em três grupos de cinco camondongos, com os seguintes resultados:

Nos 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo líquido de Czapek-Dox ..... 4 tumores

(*) O líquido de cultura citado tinha a seguinte composição: Nitrato de cálcio 1,0 gr; fosfato monopotássico 0,25 gr; sulfato de amônea 0,50 gr; sulfato de magnésio 0,25 gr; sulfato ferroso 0,01 gr; sacarose 20,0 gr e água 1.000 ml.

Nos 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo líquido com sacarose ..... 4 tumores

Nos 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pela solução salina isotônica ..... 4 tumores

Pelos números obtidos ficou demonstrado que os líquidos a serem empregados não tinham efeito antineoplásico antes do desenvolvimento do cogumelo.

Baseados nesse fato, procedemos à semeadura nos dois líquidos de quantidades aproximadamente iguais de espóros de uma cultura do "cogumelo X". Com sete dias de cultura, o meio de Czapek-Dox apresenta um micélio menos desenvolvido e sem espóros. No líquido com sacarose, além de um micélio em pleno desenvolvimento, já se veem raros pontos negros resultantes da esporulação.

Com amostras desses líquidos foram tratados fragmentos de tumor (3 dias, em temperatura da geladeira) que, inoculados ao mesmo tempo (exp. 1063) que fragmentos tratados por solução salina, produziram os seguintes tumores:

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados por cultura de cogumelo X, em líquido de Czapek-Dox, com 7 dias de desenvolvimento ..... 3 tumores

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados por cultura de cogumelo X, em líquido com sacarose, com 7 dias de desenvolvimento ..... 0 tumores

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados por solução salina isotônica ..... 5 tumores

Quando as culturas tinham 18 dias, foram colhidas novas porções dos líquidos para nova experiência (exp. 1066), cujos resultados foram os seguintes:

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo líquido de Czapek-Dox, com cultura de cogumelo X de 18 dias de desenvolvimento ..... 3 tumores

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumores tratados pelo líquido de sacarose, com cultura de cogumelo X, de 18 dias de desenvolvimento .... 1 tumor

Em 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados por solução salina isotônica ..... 5 tumores

Esses resultados indicam uma nítida atividade do líquido com sacarose.

Afim de verificar a estabilidade dêsse princípio, na experiência 1064, tomamos 100 ml de um líquido de cultura contendo sacarose, no qual o "cogumelo X" se havia desenvolvido durante 25 dias. Filtramos êsse líquido e o evaporamos ao vácuo. No fundo da cápsula na qual fôra evaporado ficou um resíduo de côr amarela, que se dissolveu em parte em 10 ml de solução salina isotônica.

Essa solução foi filtrada e usada para tratamento de 5 fragmentos do tumor que forneceu outros 5 fragmentos a serem tratados por solução salina isotônica. Após contacto de 3 dias à temperatura da geladeira, os dois grupos de fragmentos foram enxertados em dois grupos de camondongos, fornecendo os seguintes resultados:

Nos 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo resíduo soluvel de cultura de cogumelo X de 25 dias, em líquido com sacarose ..... 1 tumor

Nos 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados por solução salina isotônica ..... 5 tumores

O resíduo da evaporação, pelo que se vê, conserva pelo menos uma parte da atividade antineoplásica.

Como o resíduo da evaporação anterior tivesse uma reação ligeiramente ácida, na experiência 1067 foi feita a concentração pelo vácuo de 100 ml de uma cultura do "cogumelo X" em líquido contendo lactose e com 54 dias de desenvolvimento. O resíduo seco obtido com 92 horas de vácuo foi dissolvido em 10 ml de solução salina e dividido em 2 partes. Durante a evaporação ocorreu um acidente que consistiu no refluxo de pequena quantidade de óleo do motor, que alcançou a cápsula onde o líquido estava sendo secado ao vácuo. Á primeira foram juntados 15 ml de solução salina e assim, apesar da reação ser alcalina, foi usada para tratamento de 5 fragmentos de tumor. A segunda parte foi neutralizada com solução fraca de ácido clorídrico e o volume levado a 20 ml, para tratamento de outros fragmentos do mesmo tumor. Outros 5 pedaços do mesmo tumor foram postos em solução salina isotônica. Depois de um contacto de 3 dias, à temperatura da geladeira, os três grupos de fragmentos foram enxertados separadamente em três lótes de 5 camondongos, dando os seguintes tumores:

Nos 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo resíduo soluvel, alcalino da cultura do "cogumelo X", de 54 dias, em líquido com lactose 2 tumores

Nos 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo resíduo soluvel, neutralizado, da cultura do "cogumelo X", de 54 dias, em líquido contendo lactose ..... 2 tumores

Nos 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados por solução salina isotônica ..... 5 tumores

Esses dados confirmam o fato da conservação de uma parte da atividade antineoplásica do líquido de cultura, quando este é evaporado ao vácuo.

Na experiência 1070 tomamos 200 ml de um líquido filtrado de cultura em meio com lactose em que o "cogumelo X" tinha crescido e permanecido durante 120 dias. Depois de seco ao vácuo, o resíduo foi dissolvido e filtrado com 10 ml de água distilada, dando 8,2 ml de uma solução amarela transparente, com reação ácida. Essa solução foi dividida em 2 partes, sendo uma juntada simplesmente à solução salina para perfazer o volume de 10 ml. A outra parte é neutralizada

com solução fraca de carbonato de sódio (1,6 ml de solução a 1%) e adicionada do volume necessário de solução salina para perfazer um total de 10 ml.

Em seguida tomamos 15 fragmentos de um tumor transplantavel e tratamos, durante 3 dias, à temperatura da geladeira, separada e respectivamente pelos três líquidos mencionados. As inoculações desses fragmentos produziram os resultados que se seguem:

Nos 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados pelo resíduo soluvel ácido de cultura do cogumelo X, com 120 dias de crescimento e permanência em líquido tendo lactose	0 tumores
Nos 5 camondongos inoculados com fragmentos do mesmo líquido neutralizado	4 tumores
Nos 5 camondongos inoculados com fragmentos de tumor tratados por solução salina isotônica	4 tumores

Os numeros assinalados indicam que a propriedade antineoplásica póde ser conservada no resíduo obtido pela evaporação, desde que a sua reação seja mantida em pH ácido. A neutralização dessa acidez provoca o desaparecimento de tal atividade.

DISCUSSÃO

Os dados experimentais acima coligidos demonstram certa semelhança com o que se nota em relação ao *P. notatum*. Tambem no caso do "cogumelo X" o aparecimento do princípio ativo está intimamente ligado à sacarose. A lactose tambem o póde produzir, mas para isso requer muito mais tempo, provavelmente por ser um açucar cuja cisão não é feita com tanta facilidade pelos dois cogumelos citados.

O fato da propriedade antineoplásica coincidir com a reação ligeiramente ácida e desaparecer quando essa acidez é neutralizada, sugere que o princípio ativo seja uma substância de funções ácidas e derivada de hidratos de carbono.

Resumindo os resultados principais das experiências citadas, póde-se dizer que, como acontece com o *Penicillium notatum*, o "cogumelo X" tambem produz rapidamente um princípio ativo quando cultivado em meio de Czapek-Dox. A produção desse princípio ativo é mais lenta quando o líquido de Czapek-Dox é feito com lactose. A substituição da lactose pela sacarose, ou o acrescimo de sacarose à lactose, favorece e apressa o aparecimento da atividade antineoplásica.

O princípio antineoplásico resiste em grande parte à desidratação pelo vácuo e o resíduo obtido ao vácuo é parcialmente soluvel em água e tem reação francamente ácida. A neutralização desse resíduo torna-o inativo.

IMPORTANCE OF SACCHAROSE FOR THE APPEARANCE OF THE ANTINEOPLASTIC ACTIVITY OF A NUTRITIVE SOLUTION ON WHICH A FUNGUS (Pestalozzia sp) IS DEVELOPED

Abstract

This paper deals with experiments showing that the development of the antineoplastic activity of a fungus of the genus Pestalozzia is more rapid when cultures are carried out on Czapek-Dox medium containing saccharose. In Czapek-Dox medium containing lactose a period of twenty-five days is necessary for the development of this antineoplastic property and its degree of activity is not so high as observed in nutritive solutions containing saccharose.

———o———

SÔBRE UMA SUPOSTA RESISTÊNCIA ANTINEOPLÁSICA CONFERIDA A CAMONDONGOS PELO CONVÍVIO COM PORTADORES DO ADENOCARCINOMA TRANSPLANTADO

POR

J. R. Meyer

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Reinoculando camondongos que haviam ficado anteriormente, durante várias semanas, com portadores do tumor, tivemos ocasião de observar, como mostra o quadro n.º 1, que aqueles, numa nova inoculação, apresentavam menor número de tumores que os animais testemunhas que não haviam convivido préviamente com portadores do tumor e que eram inoculados pela primeira vez.

TABELA 1

Resultados de inoculações tumorais em camondongos que conviveram com portadores de tumor.

Exps.	% de tumores desenvolvidos nos animais reinoculados que conviveram com portadores de tumor	% de tumores desenvolvidos nos animais testemunhas	Diferenças de porcentagens entre os animais das experiências e os testemunhas	Tempo de convívio dos experimentados com portadores de tumor (dias)
1036	70%	80%	10	65
1038	60%	90%	30	61
1039	0%	20%	20	40
1040	20%	60%	40	42

Pelos dados registrados no quadro verifica-se que em todas as séries de inoculações houve sempre uma porcentagem menor de tumores nos animais reinoculados que conviveram com portadores de tumor.

Tomando-se a média dos números que representam as diferenças nessas diversas séries, póde-se dizer que os reinoculados que conviveram com portadores apresentam em média 25% de resistência em relação aos camondongos comuns.

Nas séries consideradas, todos os animais que conviveram com portadores tinham sido inoculados com fragmentos de tumor que não se desenvolveram. Houve, pois, a concorrência de dois fatores que poderiam ter influido no desenvolvimento das ultimas inoculações. O primeiro consistiu na inoculação de fragmentos de tumor préviamente

submetidos a ação de um líquido de propriedades antineoplásicas. O segundo consistiu no convívio dêsses animais com portadores de tumor.

Dessa concomitância de fatores surge a questão de saber se a resistência observada decorreu da inoculação prévia do material tratado pelo líquido antineoplásico, ou do convívio com os animais portadores do tumor.

Daí a realização da seguinte verificação:

EXPERIÊNCIA 1046: — Dez camondongos normais, nunca inoculados, foram postos numa caixa com dois camondongos portadores de grandes tumores. Após convívio de três semanas os dez camondongos (sem tumor) foram inoculados com pedaços de um tumor ativo que forneceu material para inoculação de dez camondongos testemunhas, nunca inoculados anteriormente e sem nunca terem convivido com portadores de tumor.

Ao fim de quatro semanas os resultados foram os seguintes:

Nos 10 camondongos que conviveram três semanas com portadores de tumor e que depois foram inoculados com material ativo	9 tumores
Nos 10 testemunhas que não conviveram com portadores de tumor e que depois foram inoculados	10 tumores

Como se vê, a diferença verificada nos camondongos do primeiro grupo é muito pequena para ser tomada como prova de uma resistência maior, conferida apenas pela convivência com os portadores de tumor.

Para observar comparativamente o efeito que poderia ter o convívio com inoculação prévia respectivamente de material inativo e de material ativo, foi realizada a seguinte verificação:

EXPERIÊNCIA 1049: — Oito camondongos que cinco meses antes tinham sido inoculados com pedaços de tumor tratados por um líquido antineoplásico e que não tiveram tumor, foram conservados numa caixa separada sem contacto com nenhum camondongo portador de tumor.

Noutro grupo tomamos dois camondongos que cinco meses antes tinham sido inoculados com pedaços de tumor ativo, mas que não apresentaram tumor, tendo ficado cerca de dois meses a conviver com portadores de tumor numa mesma caixa. Num terceiro grupo tomamos dez camondongos normais que nunca tinham sido inoculados nem tido qualquer contacto com portadores de tumor. Os três grupos foram separadamente inoculados com pedaços de um tumor e os resultados foram os seguintes:

Nos 8 camondongos inoculados préviamente com tumor inativo, que não conviveram com portadores de tumor e em que depois se inocula material ativo, desenvolveram-se	6 tumores
Nos 2 camondongos inoculados com material ativo, que conviveram com portadores de tumor e em que depois se inocula novo material ativo, desenvolveu-se	0 tumor

Nos 10 camondongos sem inoculação e convívio prévio, ao ser inoculado material ativo, desenvolveram-se 10 tumores

Os números registrados indicam que no primeiro grupo, em que houve só inoculação prévia de material inativo, e no segundo grupo, em que apenas dois camondongos foram inoculados préviamente com material tumoral ativo, houve certa resistência. Nos animais testemunhas não se manifestou resistência alguma.

Êsses dados levam a admitir que uma resistência natural espontânea, ou a atividade do material empregado na primeira inoculação, seja por si só um fator decisivo para aparecimento da resistência que se notou após o convívio com portadores do tumor.

DISCUSSÃO

Duran-Reynals (1930) e Milford e Duran-Reynals (1943) verificaram, com o tumor de Rous das galinhas, que a inoculação do virus, quando não resulta em tumor, póde produzir um estado de viremia que se traduz por lesões hemorrágicas em diversos tecidos ou então pelo aparecimento de tumores tardios.

A noção de um agente com algumas propriedades de um virus filtravel em tumores mamários de camondongos é uma noção que se torna cada vez mais aceita diante da verificação da possibilidade de se transmitir êsse agente de camondongos suscetiveis a camondongos espontaneamente resistentes (Andervont, H. B. - 1945 -), atravez da amamentação ou mesmo de material filtrado extraído de tecidos das linhagens suscetiveis.

Um fato conhecido quanto a diversas doenças de virus é a possibilidade de uma infecção existir em estado inaparente, quando o virus, presente na circulação, não encontra outras condições necessárias para o desenvolvimento do quadro clínico da moléstia.

No caso do linfosarcoma transplantavel do camondongo, como já tivemos ocasião de mostrar (Meyer, J. R. — 1940 —), a reprodução do tumor depende de um agente — acelular — e de outros fatores que provoquem a formação de células novas, sensíveis à cancerização. Fato idêntico foi evidenciado com o próprio adenocarcinoma transplantavel do camondongo (Meyer, J. R. e Saborido, J. - 1936 -).

Diante de todos esses fatos seria de admitir que o convívio com os portadores de tumor produzisse uma espécie de viremia que criasse certo estado de resistência às condições que acarretam o desenvolvimento do tumor quando fossem realizadas as inoculações de material ativo. Entretanto, as experiências citadas não oferecem base para confirmação dessa hipótese.

Tudo o que foi visto leva a pensar que a resistência encontrada preexistisse como fator constitucional ou resultasse de um processo de imunização decorrente da introdução dos pedaços de tumor sob a péle. Esta última hipótese encontra certo apoio no fato de ter sido menor o número de tumores todas as vezes que os animais receberam as inoculações prévias feitas com material inativo ou ativo. Além disso, em outras tentativas de imunização de camondongos pela inoculação de tecidos tumorais tratados pelos extratos aquosos acidificados de *Polyporus cinnabarinus* (MEYER, J. R. — 1950 —), os resultados sempre foram concordes em evidenciar o desenvolvimento de certa imunidade mediante as inoculações prévias de tecido tumoral. Os resultados apesar de abrangerem números relativamente baixos, porisso que concordes, em todas as experiências, indicam que o convívio por si só não é suficiente para explicar a resistência observada nos animais préviamente inoculados que estiveram em contacto com portadores de tumor.

RESUMO

Tomando em consideração os dados experimentais citados podemos dizer que a resistência um pouco maior verificada tanto nos camondongos que conviveram com portadores de tumor, como nos inoculados préviamente com resultados negativos, é um fato espontâneo ou decorre de certa imunização provocada pelos enxertos de material tumoral préviamente inoculado.

ON THE RESISTANCE OF NORMAL MICE LIVING IN COMMUNITY WITH OTHERS BEARING A TRANSPLANTABLE TUMOR

Abstract

A number of observations leading to the hypothesis of a possible resistance conferred to normal mice which lived with others bearing large tumors obtained by transplantation, was experimentally studied. Several series of experiments were carried out consisting in inoculating groups of normal mice and mice and mice having lived several weeks in community boxes with others which had developed the inoculated tumor, and in comparing the result obtained in both groups. The percentages of positive results were lower only in those groups which, after a previous inoculation followed by negative results, had remained in contact with mice having the tumor. In those groups in which no previous inoculations were made no lower percentages of positive results were obtained in spite of a long contact with mice having the tumor.

BIBLIOGRAFIA

DURAN-REYNALS, F. — 1930 — Neutralization of tumor like viruses by the blood of normal fowls of different ages. Yale Jour. Biol. an Medic. **13** : 61-76.

MEYER, J. R. e SABORIDO, J. — 1936 — Novo adenocarcinoma transplantavel do camondongo. Arq. do Inst. Biol. de S. Paulo, **7** : 119-124.

ANDERVONT, H. B. — 1945 — Fate of the C_3 H milk influence in mice of Strains C and C 57 black. J. Nat. Cancer Inst. **5** : 383-395.

MEYER, J. R. — 1940 — Indícios da existência de um agente acelular capaz de malignizar células normais, no linfosarcoma transplantavel do camondongo. Arq. do Inst. Biol. de S. Paulo, **11** : 259-264.

1942 — Estudos feitos com um segundo adenocarcinoma transplantavel do camondongo, encontrado no Inst. Biológico de S. Paulo. Arquivos do Instituto Biológico, **13** : 127.

1950 — Tentativas de imunização de camondongos contra o adenocarcinoma transplantavel — Inédito.

MILFOR, J. J. e DURAN-REYNALS, F. — 1943 — Growth of chicken sarcoma virus in the chick embryo in the absence of neoplasis. Cancer Research: **3**, 578-584.

Vol. 20 — Art. 18 1951

EFEITO DA INALAÇÃO DE VAPORES DE ETER NO DESENVOLVIMENTO DO ADENOCARCINOMA TRANSPLANTAVEL DO CAMONDONGO

POR

J. R. Meyer

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Com 1 estampa no texto

Tendo aparecido ultimamente (M. TIEGEL — 1948, 1949 e 1950) uma série de trabalhos tratando dos efeitos favoraveis da inalação de vapores aquecidos de eter no tratamento de cancerosos, e, dada a importância desempenhada por determinados lipóides em casos de cancer (WATERMANN e EBELING — 1949), resolvemos verificar quais os efeitos que exercia o eter administrado a camondongos enxertados com adenocarcinoma transplantavel, visto que, como é sabido, o eter aspirado se dissolve nos lipóides do organismo. Essa verificação foi realizada com vapores de eter em temperatura ambiente — variavel entre 19° e 24° C — porisso que experiências paralelas estavam sendo conduzidas com vapores aquecidos, pelo Dr. WALTER TREUHERZ, estagiário na Seção.

Para facilitar as inalações foi montado um dispositivo consistindo numa câmara de respiração através da qual circulava uma mistura de ar com vapores de eter. A circulação dessa mistura era obtida mediante um tubo de entrada ligado a um frasco de Kitasato, e outro de saida, ligado a uma trompa de vácuo adatada a uma torneira de água. A rolha que fechava a parte superior do frasco de Kitasato era atravessada por uma bureta graduada pela qual se introduziam quantidades bem determinadas de eter e por um tubo que permitia o acesso do ar a ser misturado. A abertura lateral do frasco era posta em comunicação com o tubo de entrada da câmara de respiração, como se vê no desenho da figura 1. O frasco de Kitasato podia ser colocado num aparelho contendo água e de aquecimento elétrico.

A verificação planejada consistiu em tomar um grupo de sete camondongos, cinco dos quais foram deixados como testemunhas. Os outros dois foram obrigados a respirar, quase todos os dias, uma mistura de ar com vapores de eter, durante sessenta a noventa minutos. Durante essas sessões, depois de nos certificarmos de que o vácuo na câmara respiratória estava funcionando normalmente, deixavamos cair pela bureta, no fundo do frasco de Kitasato, 2 ou 5 dml

de eter, de 10 em 10 ou de 15 em 15 minutos. Os camondongos não tardavam a apresentar franca excitação e prurido, caindo depois em sonolência. Conforme as doses de eter empregadas, os camondongos continuavam a dormir ou então mostravam fases intercaladas de sono e excitação.

Os dois camondongos destinados ao tratamento, antes de serem inoculados com o adenocarcinoma, foram préviamente submetidos a 12 sessões de inalação, num total de 12 horas, durante 18 dias, tendo-se empregado 21,5 ml de eter. Após as 12 sessões de inalação os dois camondongos foram inoculados com o adenocarcinoma transplantavel. Na mesma ocasião os cinco camondongos que deveriam servir como testemunhas tambem receberam material do tumor. As inoculações foram feitas pelo método dos esfregaços no tecido subcutâneo.

Os camondongos tratados continuaram a inalar vapores de eter durante um período de 39 dias. Foram empregados 70 ml desse líquido, num total de 26 sessões, compreendendo 58 horas.

Os resultados obtidos nessa experiência foram os seguintes no 39º dia depois da inoculação:

Nos 5 camondongos não tratados desenvolveram-se 4 tumores, que tinham na 3.ª semana um diâmetro médio de 1,77 cm; e os animais sobreviveram em média 34 dias, após a inoculação.

Nos 2 camondongos tratados desenvolveram-se 2 tumores, que tinham um diâmetro médio de 1,35 cm, e os animais sobreviveram 41 dias à inoculação.

No 41.º dia, após a inoculação e no 57.º depois de iniciadas as inalações de eter, tendo morrido um dos camondongos tratados, o outro foi sacrificado, sendo ambos necropsiados e submetidos a exame microscópico.

A necrópsia desses animais mostra o desaparecimento completo do panículo adiposo subcutâneo, coloração pálida do figado, e baço francamente diminuido no tamanho. O exame microscópico revela degeneração gordurosa discreta do figado, aumento do tecido linfóide da polpa branca do baço, mascarando os seios venosos da polpa vermelha. Os tumores, como é comum nessa fase de desenvolvimento, apresentavam a parte central com extensas áreas de necrose e uma camada externa em plena vitalidade e com carater francamente adenocarcinomatoso, tendo figuras de mitose frequentes.

Dos dados reunidos nesta experiência resulta a impressão de que o eter administrado sob fórma de vapores na temperatura ambiente a camondongos enxertados com adenocarcinoma exerce ligeiro

efeito no desenvolvimento do tumor, tornando o seu crescimento mais demorado. Dado o estado geral desfavoravel em que ficaram os camondongos tratados pelos vapores de eter, é de supor que o crescimento menor dos seus tumores tenha dependido das condições gerais precárias conseqüentes ao longo e intenso tratamento a que foram submetidos esses animais.

EFFECT OF INHALATIONS OF SULFURIC ETHER ON THE DEVELOPMENT OF AN ADENOCARCINOMA OF MICE

Abstract

In order to study the effect of the inhalation of sulfuric ether vapours on the development of malignant tumors as recently claimed by Tiegel, an experiment was carried out consisting in treating a number of mice with a mixture of air and ether vapours, before and after the inoculation of a transplantable adenocarcinoma of the mouse which is maintained in the author's laboratory. Simultaneous inoculations of pieces of the same tumor, having the same size, in non treated mice of the same strain and carried out at the same time were carefully compared.

From the observations resulted the impression that this treatment was followed by evidences of a slight unfavorable action on the development of the transplanted tumors. It is suggested that this activity is brought about by the unfavorable general conditions created as result of the long and repeated inhalations.

BIBLIOGRAFIA

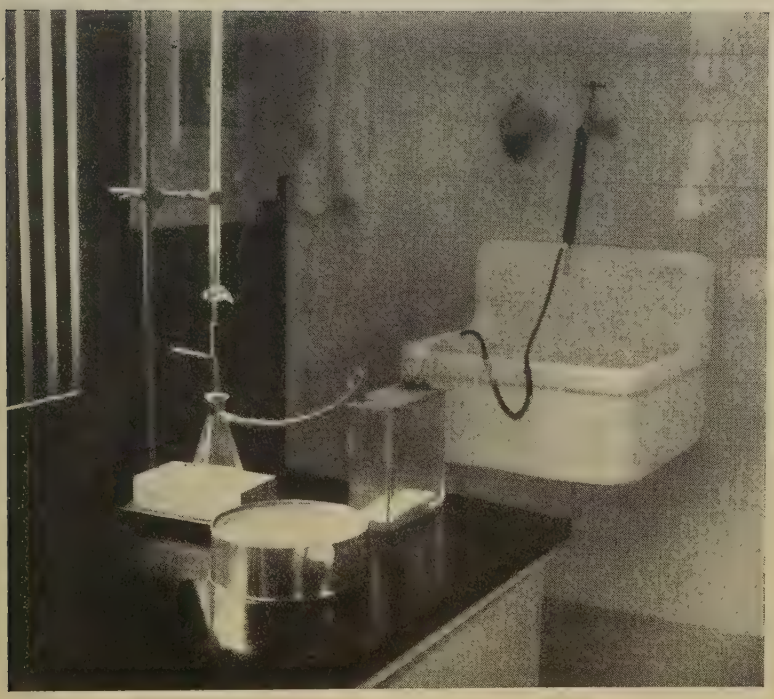
Tiegel, M. — 1948 — Vorläufige Mitteilung über therapeutische Ergebnisse bei Inhalation von überhitztem Aetherdampf. *Ars Medici*: **38** : 607-617.

1949 — Weitere Anregung zum Krebsproblem. *Ars Medici*: **39** : 166-167.

1949 — Weitere Wege des Krebsproblems. *Ars Medici*: **39** : 426-431.

1950 — Die Bedeutung der Quantitativbiologie für die Behandlung von Tuberkulose, septischen Infektionen und malignen Tumoren mit Inhalation von überhitztem Aetherdampf. *Ars Medici*: **40** : 39-36.

Watermann, N. e Ebeling, L. C. — 1949 — Qualitative Differences of Malignant Tissue. *Science*: **110** : 231-232.



Dispositivo para inalação de vapores de eter

Vol. 20 — Art. 19 1951

TENTATIVA DE IMUNIZAÇÃO DE CAMONDONGOS CONTRA O ADENOCARCINOMA TRANSPLANTAVEL

POR

J. R. Meyer

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Quando fizemos as primeiras experiências para estudar a ação antineoplásica do *Polyporus cinnabarinus* (MEYER e CERRUTI - 1946), notamos que os enxertos de inóculos tratados pelos extratos aquosos desse cogumelo, quando mediam mais de 5 mm. de diâmetro, às vezes davam tumores cujo desenvolvimento era mais lento que o de tumores obtidos partindo de inóculos do mesmo tamanho que não tinham sido tratados pelo extrato em apreço. A morosidade do crescimento observada, conquanto pudesse ser atribuida em parte ao efeito letal exercido sobre as células periféricas dos inóculos, fez surgir a hipótese de que êsse fato fosse o resultado de certa imunidade despertada pelas inoculações do material parcialmente inativado. Para pôr a prova essa possibilidade, realizamos uma experiência que consistiu em verificar si camondongos préviamente inoculados com fragmentos de tumor inativados pelo *Polyporus* se tornavam resistentes a inoculações posteriores de material ativo. Essa experiência foi feita de acordo com os seguintes detalhes:

Experiência 931 — Sete camondongos receberam, sob a péle, fragmentos de 3 mm de adenocarcinoma, tratados durante 72 horas à temperatura de 4°C por um extrato de *Polyporus cinnabarinus* preparado com uma parte de frutificações do cogumelo e três partes de solução de cloreto de sódio a 7,5 por mil. Sessenta dias mais tarde os mesmos camondongos recebem novos fragmentos tratados de igual modo. Três semanas depois recebem ainda uma terceira inoculação de fragmentos inativados de tumor. Quinze dias posteriormente os animais são inoculados com fragmentos ativos de um adenocarcinoma que forneceu pedaços para a inoculação de cinco camondongos que não haviam sido inoculados préviamente. Todas as inoculações foram feitas sob a péle do flanco direito. Os extratos aquosos tinham sido preparados com frutificações de *Polyporus* reduzidas a pó e tratadas pelo clorofórmio. A solução salina para preparação do extrato foi ligeiramente acidificada pelo ácido clorídrico.

Os resultados foram os seguintes:

Nos 7 camondongos préviamente inoculados com material inativado pelo *Polyporus*	4 tumores
Nos 5 camondongos testemunhas (não inoculados préviamente)	5 tumores

Comparando-se as relações 4/7 (57%) e 5/5 (100%) vê-se que houve certa resistência ao desenvolvimento do tumor nos camon-

dongos que receberam préviamente fragmentos inativados pelos extratos aquosos acidificados de *Polyporus*.

Outras experiências atualmente em andamento já oferecem alguns resultados que confirmam os anteriores e que serão objéto de consideração mais detalhada em futura publicação. Por ora os dados referidos se prestam a confirmar a observação anteriormente feita (MEYER e CERRUTI - 1946) quanto à atividade antineoplásica do cogumelo em apreço e a sugerir uma nova modalidade de ação contra o desenvolvimento do tumor quando os efeitos antineoplásicos tiverem que ser operados *in-vivo*.

DISCUSSÃO

Os números registrados na experiência citada, conquanto sejam pequenos, têm grande interesse visto que dos diversos meios anteriormente tentados em experiências não publicadas (inoculações prévias de material inativado pelo calor, pelo formol ou pelo dessecamento no vácuo, inoculações de material autolizado, etc.) o tratamento pelos extratos aquosos acidificados de *Polyporus* é o primeiro que oferece resultados animadores quanto à possibilidade de uma imunização.

A imunização contra tumores transplantaveis não é assunto novo. Trabalhos numerosos feitos ha tempos com outros tumores e resumidos no livro de WOOGLOM — 1913 —, indicam que é possivel produzir em ratos certa resistência a enxertos de tumores dessa espécie, desde que, como material imunizante, se empreguem células tumorais que não estejam completamente destruidas. Tendo-se como exato esse conceito, póde-se admitir que, apesar dos extratos aquosos acidificados de *Polyporus* eliminarem a capacidade dos inóculos reproduzirem o tumor, não destróem o seu poder de despertarem certa imunidade.

Tendo-se em conta o aspecto macroscópico dos fragmentos de adenocarcinoma postos em contacto prolongado com os extratos aquosos de *Polyporus*, a razão do fenómeno parece evidente. Logo depois de algumas horas, a periferia dos fragmentos adquire uma coloração amarela, resultante de um depósito pulverulento que adere à superficie dos tecidos. Os córtes histológicos dos fragmentos nessas condições confirmam a existência dêsse depósito e mostram que as celulas que ficam para dentro dessa camada externa conservam o seu aspecto normal. Se a parte central for inoculada poucas horas depois de iniciado o tratamento, sem a camada periférica amarela, as células centrais ainda não atingidas pelo extrato reproduzirão o tumor.

Essas verificações coincidem com um outro fato interessante. Se tratarmos um estrato aquoso de *Polyporus* por soro sanguíneo, líquido ascítico, solução de ovoalbumina ou solução de globulinas, o extrato perderá a atividade antineoplásica, possivelmente porque a fração ativa do extrato se combinou com as proteínas existentes nesse material. É provavelmente essa afinidade da parte ativa do *Polyporus* pelas substâncias proteicas que explica a formação da camada amarela que bloqueia a periferia dos fragmentos tratados. Si êstes tiverem dimensões um tanto avantajadas, os princípios ativos se fixarão apenas na sua parte externa, inativando-a e deixando intacta a parte central. É possivel que ao serem inoculados fragmentos tratados, de dimensões relativamente grandes, os tumores custem a crescer porque as células periféricas precisam ser destruidas antes que os vasos forneçam o estroma necessário ao desenvolvimento das células intactas da parte central dos inóculos. Nesses casos poderá dar-se outro fenómeno, si as células da parte central não estiverem totalmente inativadas. Poderão fornecer substâncias de propriedades antigênicas. O crescimento e a imunização ocorrerão, pois, ao que parece, de acordo com as condições que prevalecerem, tudo dependendo do estado de vitalidade celular no interior dos inóculos. Os dados reunidos levam-nos a admitir que essas duas possibilidades se realizaram na experiência citada.

Em 4 camondongos do primeiro grupo os inóculos de material inativado, conquanto incapazes de reproduzir o tumor, conferiram, aos camondongos que os receberam, a capacidade de reagir à inoculação posterior de fragmentos perfeitamente ativos. Nos 3 restantes o grau de vitalidade no centro do tumor foi suficiente para crescimento e reprodução do tumor.

De tudo o que foi considerado, podemos concluir que ha evidências muito sugestivas que permitem admitir ser possivel provocar certo grau de imunidade aos enxertos de adenocarcinoma do camondongo, pela inoculação prévia e repetida de fragmentos desse tumor tratados por extratos aquosos ácidos de *Polyporus cinnabarinus*.

IMMUNIZATION OF MICE AGAINST A TRANSPLANTABLE ADENOCARCINOMA

Abstract

This paper deals with an experiment which shows the possibility of inducing a certain degree of immunity on mice of a pure strain, against a transplantable mammary adenocarcinoma of the

mouse. This tumor develops in 100 percent of the mice of the same strain when fragments of this tumor tissue are grafted under the skin. The percentage of positive results is markedly lowered when the mice are previously inoculated with pieces of this tumor tissue treated during 72 hours at a temperature of 4°C, with aquous extracts of a fungus having antineoplastic properties (Polyporus cinnabarinus).

BIBLIOGRAFIA

WOOGLOM, WILLIAM, H. — 1913 — Studies in Cancer: The Study of Experimental Cancer. Columbia University Press.

MEYER, J. R. e CERRUTI, H. — 1946 — Ação antineoplásica dos extratos aquosos de "Polyporus cinnabarinus" demonstrada "in vitro" com um tumor transplantavel do camondongo.
Arq. do Inst. Biol. de S. Paulo: 17 : 175-181.

———o———

Vol. 20 — Art. 20 1951

ENSAIOS DE TÉCNICA DE INOCULAÇÃO DE TUMOR TRANSPLANTAVEL ADEQUADA A TRATAMENTOS COM SUBSTÂNCIAS ANTINEOPLÁSICAS

POR

J. R. Meyer

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Para o estudo de agentes antineoplásicos, um dos processos seguidos consiste em submeter pedaços de tumores transplantaveis "in vitro" à ação de substâncias cujo efeito se quer verificar. O material neoplásico é depois introduzido debaixo da péle. Os animais são submetidos a exames periódicos posteriores e registrados os resultados em comparação com os obtidos mediante inoculação de pedaços não tratados, do mesmo tumor, introduzidos em camondongos testemunhas. Outra técnica consiste em inocular os pedaços de tumor nos camondongos e submeter certo número desses animais a tratamentos "in vivo", pelas substâncias cuja ação antineoplásica se quer verificar. Acontece, porém, que muitas vezes as substâncias a estudar, apesar de ativas não se difundem em toda a contextura dos pedaços de tumor, de modo que êste, atacado apenas na periferia, conserva na parte central elementos viaveis que o reproduzem mais tarde. Outra dificuldade do estudo, nesses casos, é o fato de que às vezes essas substâncias, injetadas nos animais enxertados, sofrem diluições ou modificações quando entram em contacto com os líquidos orgânicos, perdendo assim se não toda, a maior parte da sua atividade.

Diante desses fatos haveria vantagem em se estabelecer um método que permitisse reproduzir os tumores sem o emprego de pedaços de tecido tumoral, incompativeis com a difusão dos líquidos ativos em toda a sua contextura. Como êsses pedaços ordinariamente mediam cerca de 3 mm de diâmetro, ensaiamos primeiramente duas modalidades de transplantação, que consistiram em introduzir células tumorais respectivamente sob a fórma de esfregaços e sob a fórma de injeção de suspensões de células de tumor, de acordo com o seguinte método:

Método: — De um tumor transplantavel de camondongo, com 8 a 15 dias de desenvolvimento, obtinhamos quatro pedaços. O primeiro era dividido em fragmentos, tendo 3 mm de diâmetro. O segundo em pedaços do mesmo tamanho. O terceiro era reduzido a polpa, misturado com três partes de solução salina isotônica e a suspensão filtrada em gaze esterilizada. O quarto pedaço era conservado como fôra obtido.

Cada uma dessas partes serviria para um tipo de inoculação, realisado da seguinte maneira: os fragementos do primeiro pedaço eram enxertados, de acordo com a técnica comum, sob a péle de 5 camondongos; os pedaços do segundo grupo eram tomados separadamente entre as pontas de uma pinça, introduzidos e retirados numa galeria feita sob a péle, de modo a se fazer um esfregaço de células frescas sobre os tecidos vivos do hospedeiro; a suspensão de células preparada com o terceiro pedaço, filtrada sobre gaze esteril, era injetada sob a péle em 5 camondongos, recebendo cada animal 0,2 ml de suspensão celular; com o quarto pedaço eram feitos esfregaços sobre escarificações obtidas na péle depilada em 5 camondongos. Essas escarificações eram feitas com a ponta de um pequeno bisturí, como as que se fazem para a vacinação antivariólica humana.

Feitas as inoculações de acordo com os detalhes referidos, os camondongos eram depois guardados e tratados identicamente e examinados de semana em semana, anotando-se os resultados à medida que iam aparecendo.

Em duas experiências, resumidas no quadro n.º 1, verificou-se que o método dos esfregaços produziu um número de tumores igual ao dos testemunhas (inoculados com pedaços de 3 mm de diâmetro). Os tumores obtidos mediante os esfregaços foram todos grandes e cresceram com rapidez variavel, ora menor ora igual á dos tumores do primeiro grupo.

O processo de inoculação mediante injeção de suspensões celulares em solução salina isotônica produziu maior número de tumores, sendo estes menores e de desenvolvimento lento. O processo das escarificações não produziu novos tumores.

QUADRO N.º 1

Resultados dos tlansplantes tumorais feitos segundo diversas técnicas:

TÉCNICAS	N.º de camond. usados	N.º de tumores obtidos	Tamanho dos tumores	Rapidês de desenvolvimento
Introdução de fragtos. de 3 mm sob a péle	10	8	3 cm	Grande
Esfregaço de pedaço de tumor em galeria feita sob a péle	10	8	1 cm 2 cm 3 cm	Ora grande Ora pequena
Injeção de células tumorais suspensas em sol. salina isotônica	10	9	1 cm	Pequena
Esfregaço de pedaço de tumor em escarificações da péle	10	—	—	—

Paralelamente fizemos quatro séries de cinco inoculações subcutâneas (Exps. 1082, 1083, 1085 e 1086) empregando fragmentos de 1 a 2 mm de diâmetro num total de 20 camondongos, com os seguintes resultados:

QUADRO N.º 2

Resultados dos transplantes feitos com introdução de fragmentos de 1 a 2 mm sob a péle.

TÉCNICA	N.º de camond. usados	N.º de tumores obtidos	Tamanho dos tumores	Rapidês de desenvolvimento
Introdução de fragtos. de 1-2 mm sob a péle	20	20	1 cm	Pequena

Como se vê pelos detalhes registrados nos quadros, é possivel realizar-se a transmissão de tumores mediante esfregaços de tecido tumoral numa galeria feita sob a péle, mediante a injeção de suspensão de células tumorais em solução salina isotônica e mediante inoculação, sob a péle, de fragmentos de 1 a 2 mm de diâmetro.

DISCUSSÃO

De grande importância pratica para estudos de cancerologia experimental é a modalidade de inoculação.

Os tumores transplantaveis de camondongos, depois de certo número de passagens, adatam-se aos novos hospedeiros crescendo com rapidêz enorme quando são inoculados pelo processo da introdução de fragmentos de tumor ou de polpa tumoral sob a péle. Considerando-se que nessas condições os novos tumores matam os camondongos dentro de 35 dias e que a vida média de um camondongo normal é de cerca de 4 anos ou sejam 1.460 dias, pode-se dizer que a evolução desses tumores se faz em 1/41 de existência normal do camondongo. Se considerarmos a vida média de um homem como sendo de 60 anos, um tumor maligno com o mesmo vigor de crescimento mataria esse homem em cêrca de 17 mêses. Se tivermos em conta que em geral os tumores malignos, via de regra, antes de darem sintômas que levem ao diagnóstico, tomam mêses e até anos antes de serem reconhecidos, vê-se que a velocidade de crescimento dos enxertos em apreço é enorme.

Por esse motivo os métodos de inoculação por introdução de porções avantajadas de tecido tumoral sob a péle não são indicados quando se deseja ter mais tempo para fazer atuar sobre os novos tumores substâncias cujo efeito se quer estudar.

Mas, alêm désta desvantagem há um outro inconveniente. Antes de se formar o novo estroma portador de vasos que vai nutrir o novo tumor, os inóculos grandes muitas vezes contêm em sua parte central grupos de células profundamente situados, cercados de uma carapaça necrótica que os protege. Êsses elementos tumorais apesar de não contarem com vasos se mantêm viaveis durante muitos dias e sem entrar em contacto com substâncias injetadas no organismo dos hospedeiros. Daí o grande interesse do processo dos enxertos pela injeção de suspensões de células tumorais em soluções isotonicas, que introduzindo células ou apenas pequenos grupos celulares permite não só um crescimento mais lento com um contacto mais intimo entre todas as células cancerosas e as substâncias injetadas no hospedeiro.

ON A SIMPLE TECHNIQUE OF INOCULATION OF TRANSPLANTABLE TUMORS SUITABLE TO THE STUDY OF ANTINEOPLASTIC SUBSTANCES USED «IN VIVO»

A b s t r a c t

A simple method of inoculation of transplantable tumor was worked out, consisting in smearing small pieces of fresh tumor tissues inside small pockets made in the subcutaneous tissues of mice through a small incision of the skin. This method affords the same results as the classical methods consisting in injecting or grafting small amounts or pieces of tumor tissues through the skin, and has the advantage of making less difficult the contact of all the tumor cells with the body fluids during the early stages of tumor growth, thus facilitating the study of antineoplastic substances used i n v i v o.

———o———

INFLUÊNCIA DE DOSES ELEVADAS DE BHC NO DESENVOLVIMENTO DE CAFEEIROS EM VASOS

POR

K. Silberschmidt

Com 1 figura no texto e estampas 29-31

A luta contra a broca do café, que desde a fundação do Instituto Biológico constituiu uma das preocupações principais dos seus técnicos, entrou, na segunda metade do ano 1947, numa nova fase. Tentou-se no referido ano, pela primeira vez, o combate direto do causador dessa praga (*Hypothenemus hampei*, FERRARI, 1867) por meios químicos.

C. A. SEIXAS, a cuja iniciativa se deve o impulso para o estudo da possibilidade do controle químico da broca do café e, posteriormente, a organização da campanha, em grande escala, contra essa praga, publicou em fins de 1947 um trabalho sôbre os primeiros resultados dos ensáios executados no laboratório (em colaboração com O. GIANOTTI) e no cafezal (23, 1947). Nesse trabalho chegou ele à conclusão de que "o isômero gama do hexacloreto de benzeno, tendo ação como inseticida de contáto, de ingestão e ainda como fumigante, apresentou resultados satisfatórios em laboratório, confirmados pelos trabalhos do campo" e, ainda, que "o polvilhamento ..... foi o que apresentou melhores resultados". No mesmo trabalho SEIXAS prevê no máximo 4 aplicações anuais de um inseticida contendo 1% de isómero gama do hexaclorciclohexano. Tornou-se evidente, por esses estudos e alguns trabalhos posteriores, que o efeito do B H C contra a broca do café é mais intenso do que o do D D T e outros inseticidas modernos considerados em tais investigações comparativas.

O entusiasmo, bem justificado, com que os cafeicultores aceitaram essas sugestões de um combate diréto, por meios químicos, à broca do café, fez prever um largo uso do mencionado inseticida na lavoura. Naquela época teve-se mesmo que contar com a possibilidade de que alguns fazendeiros, no desejo de se livrar rapidamente da broca, tentassem, ultrapassando as recomendações dadas pelo Instituto Biológico, usar B H C com mais alto teor em isómero gama, ou aumentar o número de aplicações. Essas possibilidades, embora muito auspiciosas do ponto de vista do combate à broca do café, não deixaram de causar apreensões aos que já naquela época tinham conhecimento dos possíveis efeitos fitotóxicos de B H C.

Com a generalização do uso de B H C na agricultura, que se verificou a partir da comunicação de SLADE R. (26, 1945), diversos auto-

res observaram, sob certos modos de aplicação, efeitos fitotóxicos, produzidos por esse inseticida. Assim, por exemplo F. P. CULLINAN (4, 1947), verificou, que hexaclorciclohexano (chamado em seguida B H C), incorporado ao sólo em quantidades relativamente pequenas, produziu um efeito inhibidor do desenvolvimento das plantas. R. I. STOKER (28, 1948), cujo trabalho consiste justamente no estudo mais detalhado de tais efeitos fitotóxicos, distingue dois grupos diferentes de efeitos prejudiciais da aplicação de B H C nas plantas tratadas. Pela pulverização de macieiras e ameixeiras, com as concentrações de B H C recomendadas para o combate aos insetos (0,01 — 0,05% isómero gama), as frutas de certas variedades adquiriram um gosto de môfo. Alteração semelhante foi também observada em ervilhas, cenouras, couve-flôr e abobora, pulverizadas com essas mesmas concentrações do inseticida. Além disso, os "seedlings", quando polvilhados ou pulverizados com concentrações 2 ou 4 vezes mais elevadas, apresentaram um nítido impedimento no desenvolvimento e "queimaduras", de extensão variavel, nas fôlhas.

Resultados obtidos em experiências com outras plantas levaram A. C. FOSTER, em artigo publicado por S. CATES (*) (3, 1948) a recomendar o maior cuidado possivel no emprego de B H C em culturas de plantas alimentícias. Nesse artigo grande importância é atribuida à resistência muito acentuada que o B H C oferece à decomposição, principalmente em solo alcalino, e ao perigo, daí resultante, da acumulação da substância tóxica no solo.

Dado o valor consideravel que a cafeicultura representa para a economia do Brasil, e o enorme vulto que a campanha do combate à broca do café por meio de inseticidas ia tomando, era óbvio que todas as possibilidades de um efeito prejudicial de B H C ao cafeeiro tinham que ser investigadas, antes de que pudessem ser estabelecidas, definitiva e detalhadamente, medidas de combate com esse inseticida.

Uma dessas preocupações, relativa a uma possivel alteração do gosto do café em consequência do tratamento dos cafezais por B H C, foi afastada pelos estudos a esse respeito executados por C. A. SEIXAS (25, 1948). Mostrou SEIXAS, nesse trabalho, que na prova de bebida era impossivel distinguir o café tratado do não tratado, da mesma procedência.

Coube a nós, então, estudar eventuais efeitos prejudiciais que B H C pudesse exercer no desenvolvimento do cafeeiro. Tais estudos pareceram-nos especialmente necessários, por ser o cafeeiro uma planta perene e da qual se esperam colheitas durante muitos anos sucessivos,

(*) Devemos a indicação deste trabalho à gentileza do Snr. O. Moore do Consulado Geral Americano, São Paulo.

de maneira que mesmo uma perturbação aparentemente pequena, de seu metabolismo ou desenvolvimento, poderia resultar em prejuizos duradouros e gravissimos.

Mas a maioria das pesquisas realizadas até então quanto ao efeito fitotóxico de inseticidas referia-se a plantas anuais; e por isso os métodos nelas empregados para estudar a ação acumulativa do inseticida no solo não podiam ser imediatamente adotados para os nossos estudos. Precisávamos, em primeiro lugar, apurar de que maneira se manifestaria um eventual efeito fitotóxico de B H C no cafeeiro. Resolvemos pois tratar mudas de café, plantadas em vasos de barro e mantidas em estufa, com doses elevadas de B H C. Não era nossa intenção reproduzir, nesses ensáios, as condições exatas do cafezal, mas sim obter informações quanto ao tipo de perturbação que, em casos de aplicação exagerada de B H C, poderia ser esperado.

MATERIAL E MÉTODOS

De acordo com esse plano geral escolhemos para as nossas experiências, em início de Março de 1948, 56 plantas de cafeeiro (Coffea arabica) de 3 anos de idade, provenientes do Instituto Agronómico em Campinas. Essas plantas, cujo tamanho era de cerca de 65 cm., foram divididas em 7 grupos, de 8 plantas cada um. Ao iniciar a experiência, em 13/3/48, cada planta foi retirada do jacá, em que tinha sido transportada a São Paulo, e plantada em vaso de barro de 20 cm. de altura e do mesmo diâmetro de boca. Esses vasos têm capacidade para 4 quilos de terra. O primeiro grupo, compreendendo as plantas "testemunhas", não foi submetido a nenhum tratamento. Todas as plantas dos demais grupos receberam, no dia indicado, quantidades determinadas ou de pó inerte (talco) ou de B H C com um teor de 6% de isómero gama. Como base de cálculo para as quantidades de inseticida ou de pó inerte a serem ministradas foi escolhida a de substância ativa que, de acordo com o citado trabalho de C. A. Seixas (O Biológico, XIII, 1947, pg. 228), poderia ser aplicada anualmente em cada pé dos cafezais tratados. Essa quantidade de substância ativa é contida em 31 g de B H C técnico, com um teor de 6% do isómero gama. É evidente que essa quantidade de pó, que nas condições da prática é ministrada em 4 aplicações sucessivas e em mistura com pó inerte, quando usada em forma pura para uma muda relativamente pequena de cafeeiro, deve ser considerada como dose bastante elevada. O uso, porem, para mudas pequenas, de quantidades maiores de inseticida com um teor mais baixo de isómero gama de B H C, teria criado dificuldades metódicas, já que era nosso intuito estudar o efeito de doses elevadas da substância ativa, no desenvolvimento da planta tratada.

Nas nossas experiências foi essa quantidade incorporada ao solo, isto é, misturada com a metade superior do conteudo de terra dos vasos, ou polvilhada sôbre as fôlhas da muda. Nessas formas de aplicação estudamos ainda duas modalidades: na primeira a quantidade total foi ministrada de uma só vez; e na segunda a aplicação foi parcelada, empregando-se doses de 10, 10 e 11 g, respetivamente, em 13/3, 4/5 e 20/7/48. Ambas essas modalidades, na série referente à incorporação do pó no sólo, foram também estudadas com talco, em 2 grupos, que devem ser considerados também como testemunhas. Damos a seguir uma descrição suscinta dos sete grupos de plantas com os tratamentos a que foram respetivamente submetidos.

1.º grupo, testemunha, nenhum tratamento.

2.º grupo, testemunha, 31 g de talco incorporadas à terra, no ato de transplante, em 13/3/48.

3.º grupo, testemunha, 10 g de talco incorporadas à terra, no ato de transplante em 13/3/48, e 10 e 11 g incorporadas à terra em 4/5 e 20/7, respetivamente.

4.º grupo, 31 g de B H C, contendo 6% do isómero gama, incorporadas à terra, no ato de transplante em 13/3/48.

5.º grupo, 10 g de B H C, contendo 6% de isómero gama, incorporadas à terra, no ato de transplante, em 13/3/48 e as doses sucessivas nas datas mencionadas para o grupo 3.

6.º grupo, 31 g de B H C, contendo 6% de isómero gama, polvilhadas sôbre a planta, em 13/3/48.

7.º grupo, 10, 10 e 11 g de B H C, contendo 6% do isómero gama, polvilhadas sôbre a planta, em 13/3, 4/5 e 20/7 respetivamente.

As plantas foram dispostas numa estufa de tela, em 8 fileiras de 7 plantas, (compondo-se cada fileira de uma planta representativa de cada um dos 7 tratamentos). A ordem em que as plantas foram colocadas em cada fileira era semelhante à adotada na distribuição em quadrado latino.

RESULTADOS DAS OBSERVAÇÕES

Como já foi exposto na Introdução, um dos fins deste trabalho consistiu em verificar qual a reação da planta à aplicação excessiva do inseticida que poderia ser considerada caraterística e qual entre elas permitiria um estudo quantitativo desse efeito. Por isso é que foram efetuadas observações em vários sentidos. Ao iniciar o ensáio, medimos o comprimento de cada planta (do nivel do sólo até o ápice) e repetimos esse procedimento no decurso das observações, várias vezes, deixando sempre um intervalo de cerca de 4 meses entre duas medições sucessivas. Observamos, porem, já poucas semanas depois de organi-

zar o ensáio, que as plantas em que o B H C tinha sido incorporado ao sólo, começaram a perder fôlhas, de maneira que os diversos grupos de plantas distinguiram-se entre si claramente pelo número de fôlhas que ainda apresentavam. Iniciamos assim contagens periódicas das fôlhas das 56 plantas empregadas no ensáio, considerando o número das fôlhas caídas (número este estimado por comparação entre os grupos tratados e os grupos "testemunhas") como índice do efeito prejudicial do inseticida. Os resultados das observações, referentes ao tamanho das plantas e ao número das fôlhas perdidas serão expostos separadamente. Antes, porém, queremos mencionar algumas observações que se referem a efeitos gerais do inseticida no desenvolvimento das plantas.

a) Efeitos gerais do B H C no cafeeiro.

Nos grupos 6 e 7, em que o inseticida tinha sido aplicado em forma de polvilhamento, pudemos verificar uma reação da planta já em 18/3/48, isto é, poucos dias após o tratamento. Nesse dia as fôlhas novas de 4 plantas, tanto do grupo 6 como do grupo 7, tinham perdido a turgescência e se tornaram pretas. Mais duas plantas do grupo 6 e mais uma do grupo 7 apresentaram manchas pretas, de forma variavel, nas fôlhas novas. Provavelmente a morte dos tecidos tenros das fôlhas novas foi causada pela concentração muito elevada (6% do isómero gama) do inseticida. Vários autores, como por exemplo, BROOKS, J. W. and L. D. ANDERSON (2, 1947) e IVY, E. E. and K. P. ERWING (13, 1946) já tinham verificado que polvilhamento de plantas de algumas espécies, por exemplo, pepino, com altas concentrações de B H C, pode provocar uma queima das pontas e das fôlhas novas. Em nossa experiência as fôlhas "queimadas" foram — nos meses que se seguiram ao tratamento — rapidamente substituidas, seja pela atividade do próprio ponto de vegetação, que em alguns casos não foi atingido, seja, como em outros casos, pelo desenvolvimento de novas fôlhas oriundas de gemas dormentes. Nas plantas do grupo 7, em que o polvilhamento foi executado em 3 datas sucessivas, após cada aplicação do inseticida observaram-se também os sintomas da "queima" das fôlhas.

Nos cafeeiros dos grupos 4 e 5, em que o B H C tinha sido incorporado ao solo, a reação da planta demorou um pouco mais para se manifestar. Mas já em 24/3, isto é, 11 dias após o transplante das mudas à terra misturada com B H C, observamos, em três plantas dos mencionados grupos, uma "murcha" das fôlhas novas, fenómeno caracterizado pela perda da turgescência normal das fôlhas. Essas plantas exibiam as fôlhas com as pontas curvadas para baixo, como se sentissem falta de água. Na observação executada 2 semanas mais tarde, já 9 plantas mais, dos mesmos grupos, apresentaram essa perda

de turgescência das fôlhas. Nas observações subsequentes, que abrangem um período de mais de 3 anos, as plantas dos grupos 3 e 4 continuavam apresentando o sintoma da falta de turgescência. Observou-se também, às vezes, um enrugamento das fôlhas novas das plantas desses grupos e um ondulamento dos seus bordos. Em alguns casos se observou mesmo a seca do ápice do caule principal. A fotografia (fig. 1), tirada em 1/4/48, isto é, 18 dias depois do ínicio da experiência, mostra a perda da turgescência nas fôlhas da muda plantada em solo misturado com 31 g de B H C.

Neste capítulo dos efeitos gerais do B H C no desenvolvimento do cafeeiro, devemos também mencionar os casos em que o inseticida chegou a matar a planta.

Em 22/3/1949, isto é, um ano após organização do ensáio, já 3 das 8 plantas do grupo 4 (31 g B H C solo) tinham perecido. Até o fim desse mesmo ano (22/12/49) o número de plantas mortas no grupo 4, assim como no grupo 6 (10 + 10 + 11 g B H C solo), se elevou a 5 (62,5%). Durante o mesmo lapso de tempo tinham morrido 1 planta do grupo 1 (test.), e 1 do grupo 3 (10 + 10 + 11 g de talco solo).

Até meiados de 1951 as plantas remanescentes assim se distribuiam pelos diversos grupos:

no grupo 1 (test.) : 7
no grupo 2 (talco 31 g, solo) : 7
no grupo 3 (talco 10 + 10 + 11 g, solo) : 6
no grupo 4 (BHC 31 g, solo) : 1
no grupo 5 (BHC 10 + 10 + 11 g, solo.) : 0
no grupo 6 (BHC 31 g, polv.) : 5
no grupo 7 (BHC 10 + 10 + 11 g, polv.) : 3

Já desta pequena tabela se vê que nos últimos dezoito meses, mesmo as plantas das séries em que o H B C tinha sido empregado em forma de polvilhamento, começaram a perecer, possivelmente na medida em que o pó contendo a substância fitotóxica, caindo das fôlhas ao chão, penetrara no sólo.

Para possibilitar, apezar da morte de algumas das plantas, a continuação das observações, e principalmente para averiguar se a terra de um vaso, em que já perecera um cafeeiro, ainda exercia, após um lapso de 1 ou dois anos, efeito fitotóxico em outra muda igual, foram substituidos por plantas sadias da mesma origem, em 9/5/49 seis e em 19/1/50, oito cafeeiros mortos. No primeiro desses replantes foram substituidas

do grupo 1 1 planta;
do grupo 3 1 planta;

do grupo 4 4 plantas, ao passo que o segundo replante compreendia
do grupo 4 2 plantas;
do grupo 5 6 plantas.

Mesmo dessas plantas substituidas, 3 no grupo 4 e 1 no grupo 5 tinham perecido em meiados de 1951. Já essas observações indicam que o efeito fitotóxico do B H C no solo dos nossos vasos persistiu durante um prolongado prazo. Para poder avaliar melhor esse efeito, executamos nos vasos de cafeeiro alguns testes biológicos, organizando em alguns deles semeaduras de Brassica campestris L., planta bastante sensivel ao efeito de B H C. Os resultados dessas observações serão apresentados depois do relato das experiências com cafeeiros.

b) o efeito do B H C no crescimento dos cafeeiros.

Como já foi mencionado na parte referente ao "Material e Métodos", julgamos inicialmente que a rapidez do alongamento do caule principal dos cafeeiros pudesse servir de índice para avaliar um eventual efeito fitotóxico do inseticida. Não era, de fato, como veremos a seguir, desprovida de razão essa idéia. Surgiram, porém, na determinação periódica do comprimento dos caules, algumas dificuldades que precisamos expôr antes de apresentar os dados. Nos grupos 6 e 7, que receberam o inseticida por via de um polvilhamento, mostraram-se após cada tratamento sintomas de "queima" na parte tenra do ápice e nas fôlhas novas. Em alguns casos a ponta da haste principal morreu em consequência desses danos e ramos laterais, saidos de gemas dormentes, chegaram a formar novo ápice. Tais "queimas" e "secas" do ápice original dificultaram a exáta determinação do comprimento das mudas, visto que a parte apical é justamente a zona que, em plantas normais, apresenta o maior crescimento. Também a perda de turgescência, que surgiu nos vasos dos grupos 4 e 5, em que o B H C tinha sido incorporado ao solo, e que também às vezes culminou numa seca das pontas, contribuiu para dificultar as medições. No caso de algumas plantas de diversos grupos a ponta do caule já estava quebrada no início do ensáio e nesse caso o crescimento do caule principal não dá idéia correta do desenvolvimento do pé inteiro. Mesmo assim, acreditamos que dos dados que obtivemos pode-se tirar algumas conclusões relativas ao efeito fitotóxico do B H C no cafeeiro.

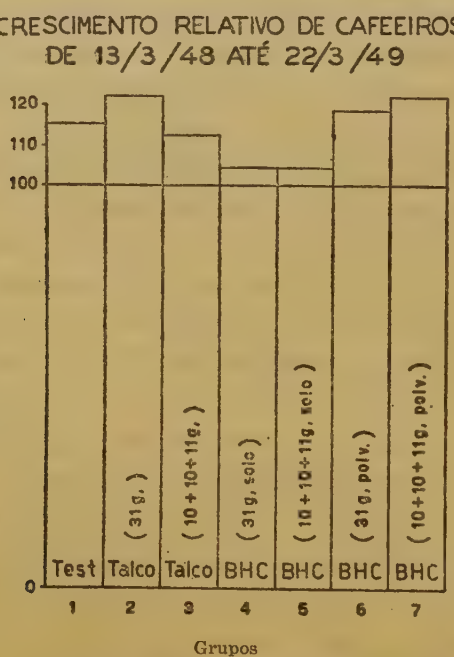
Na tabela 1 apresentamos valores que representam a média do comprimento total dos cafeeiros, para as 8 mudas de cada grupo, em 4

épocas sucessivas, durante o primeiro ano de experimentação. No gráfico correspondente é ilustrado o crescimento porcentual das plantas de cada grupo, atribuindo-se o valor 100 ao comprimento médio de cada grupo que foi determinado na medição inicial em 13/3/48.

TABELA 1
Altura média dos cafeeiros nos grupos

	1	2	3	4	5	6	7
	test.	31 g de talco	10 + 10 + 11 g talco	31 g de BHC, solo	10 + 10 + 11 g BHC, solo	31 g de BHC, polv.	10 + 10 + 11 g BHC, polv.
13/4/48 .	64,7	65,3	62,6	63,8	65,1	65,2	62,4
4/5/48 .	67,0	68,0	65,6	65,5	65,7	66,6	64,5
26/8/48 .	68,2	68,6	68,2	67,1	66,9	68,4	65,5
23/3/49 .	74,5	79,7	70,3	66,5	68,3	78	76,2

Ficou retardado nitidamente o crescimento das plantas dos grupos 4 e 5, nas quais B H C tinha sido incorporado ao solo. O crescimento relativo, obtido no decurso de um ano, das plantas desses dois



grupos, nem atingiu 5%, ao passo que em todos os demais grupos esse valor era superior a 10%. Merece ser destacado o fato de que o ritmo do crescimento dos cafeeiros polvilhados com B H C (grupo 6 e 7),

apezar de queimas que essas plantas sofreram em consequência do tratamento, não apresentou uma diminuição duradoura. Já nos referimos à substituição que nesses grupos frequentemente se verificou, da ponteira da haste principal por brotos laterais. Não se pode concluir, porem, dessas observações, que o polvilhamento nessas plantas não tenha prejudicado o desenvolvimento posterior. Na parte deste trabalho, referente à contagem das fôlhas, consideraremos de novo esse problema.

Teria sido interessante reunir na tabela 1 também os dados relativos ao crescimento dos cafeeiros nos últimos dois anos de experimentação. Mas visto que a partir de Março 1949 muitas plantas, principalmente dos grupos 4 e 5, começaram a definhar e tiveram que ser substituidas por outras mudas, tornou-se impossivel apresentar dados completos. Em outra parte do trabalho consideraremos porem o comportamento das plantas substituidas.

c) o efeito do B H C na queda das fôlhas do cafeeiro.

Nas observações semanais que efetuamos nos cafeeiros, nos primeiros mêses após o tratamento das mudas com B H C, verificamos que a "murcha" das fôlhas nas plantas dos grupos 4 e 5 era frequentemente seguida de um amarelecimento, que por sua vez passou a uma seca e finalmente a queda das fôlhas. Notamos que essa queda se deu aproximadamente em ordem acropetal, já que era nas fôlhas basais, tanto do caule principal como dos ramos laterais, que primeiramente se observava esse fenómeno. Não tendo previsto, ao planejar o ensáio, a existência de uma relação entre o efeito fitotóxico de B H C a queda das fôlhas, tinhamos deixado de contar o número de fôlhas das nossas mudas antes da aplicação dos tratamentos. Quando averiguamos, porem, cerca de três meses após o começo do ensáio, que as mudas tratadas caraterizavam-se por um aspéto "despido", (vejam-se as fig. 2 e 3 das estampas 29 e 30 resp.), efetuamos a primeira contagem das fôlhas de todas as mudas de cafeeiro que faziam parte do ensáio. É claro que essa contagem, executada já no decurso da experimentação, forneceu para as plantas dos grupos tratados, algarismos que ficaram aquem dos relativos aos grupos testemunhas. Acreditamos porem que o número médio de fôlhas por planta, nos grupos tratados, não era muito diferente do averiguado na primeira contagem para os grupos testemunhas (1, 2 e 3), já que ao iniciar o ensáio tinhamos tratado de distribuir as plantas da maneira mais uniforme possivel entre os diversos grupos. Na tabela 2 reunimos os resultados dessa primeira contagem, assim como os de 4 contagens subsequentes.

TABELA 2

Número médio de fôlhas nos cafeeiros dos grupos

	1	2	3	4	5	6	7
	test	31 g de talco	10 + 10 + 11 g talco	31 g de BHC, solo	10 + 10 + 11 g BHC, solo	31 g de BHC, polv.	10 + 10 + 11g BHC, polv.
18/ 6/48 .	95,5	83,2	83,6	68,0	83,0	93,5	91,6
31/ 8/48 .	84,25	86,87	76,1	53,6	64,25	78,5	96,5
24/10/48 .	98,5	100,3	85,3	48,875	63,87	87,87	97,37
20/12/48 .	118,37	124	105,123	54,25	74,25	112,25	131,5
6/10/48 .	84,7	119,1	91,5	39	19,3	103,2	96,1

Do exame dos dados correspondentes à primeira contagem torna-se patente que as plantas do grupo 5, cujo solo tinha sido misturado com B H C, ministrado em 3 aplicações sucessivas, não mostraram então o efeito fitotóxico do inseticida. Deve ser lembrado que essas plantas, assim como as do grupo 7, na ocasião da 1.ª contagem só tinham recebido 2 doses de B H C, isto é, um terço menos do que as mudas dos grupos 4 e 6. Já dois meses mais tarde, isto é, um mês após ter sido ministrada a última dose de B H C, também os cafeeiros pertencentes ao grupo 5 caracterizam-se por um número relativamente reduzido de fôlhas. Mesmo assim, em relação ao número das fôlhas, ainda superavam os do grupo 4, que nessa época já tinham perdido aproximadamente a terça parte do número inicial de fôlhas.

Salvo as flutuações relacionadas com as estações do ano essa perda de fôlhas continuou nos grupos 4 e 5 até a última contagem incluida na nossa tabela. Nessa tabela, separamos por um intervalo os valores correspondentes a essa última contagem, dos demais algarismos, porque em fins de 1949 já a metade das plantas do grupo 4 tinha perecido, de maneira que o número de fôlhas indicado para esse grupo representa apenas a média de 4 e não, como deveria ser, de 8 plantas. Também grande parte das plantas do grupo 5 estava definhando nessa época, deixando-nos em dúvida, se elas deveriam ser consideradas "vívas" para o efeito de contagem.

Em todo caso pode-se inferir, dos dados da tabela, que o número das fôlhas pode servir, até um certo ponto, como índice do efeito fitotóxico do inseticida. Para compreender, porem, a significação da relação existente entre efeito fitotóxico e número de fôlhas, devemos ter

em mente que o número de fôlhas apenso num determinado momento a uma planta é o resultado de um equilíbrio entre fôlhas recem formadas e fôlhas velhas, já eliminadas pela planta. Ao avaliar a perda de fôlhas velhas em diversos grupos de plantas, pela determinação do número total de fôlhas que essas plantas apresentam, devemos ter certeza de que o processo inverso, isto é, a formação de fôlhas novas, se efetua de maneira uniforme nas plantas dos vários grupos. Um comportamento tão uniforme não se pode admitir no nosso caso, para as plantas dos grupos 6 e 7, que tinham sido polvilhadas com doses massiças de B H C. Nessas plantas desenvolveram-se, em consequência da queima que a ponta do caule principal e dos ramos laterais sofreram, numerosas fôlhas novas de botões dormentes, e assim existe a possibilidade de que uma queda de fôlhas velhas, nesses grupos, fosse compensada por uma formação excessiva de fôlhas novas. O fato é que, pelo menos até fins de 1949, as plantas desses grupos não apresentavam menos fôlhas do que as testemunhas. Achamos necessário, por isso, apresentar na tabela 3 os resultados das observações quanto ao número de fôlhas dos cafeeiros efetuadas durante o ano de 1951. Não estão incluidos nessas contagens os grupos 3 e 4, porque as plantas desses grupos já então estavam mortos e tinham sido substituidas por outras mudas. Dos cafeeiros do grupo 6, porém, ainda 5 podiam ser utilizados para a contagem e dos do grupo 7 restavam pelo menos três.

TABELA 3

Número médio de fôlhas nos cafeeiros dos grupos

	1	2	3			6	7
	test	31 g de talco	10 + 10 + 11 g talco			31 g de BHC (polv.)	10 + 10 + 11g BHC (polv.)
29/3/51	160	177,1	158,7			91,8	66
27/7/51	102,2	104,7	102,6			52,4	61,6

Indicam os algarismos reunidos nesta tabela que também os cafeeiros polvilhados com doses massiças de B H C reagiram à ação do inseticida pela queda parcial das suas fôlhas. Mas nesses grupos o efeito fitotóxico evidenciou-se mais tarde, pois três anos foram necessários, a partir do tratamento das mudas, para que pudessemos verificar a queda das fôlhas nas plantas polvilhadas. Mencionamos anteriormente uma das razões a que acreditamos poder atribuir a relativa

abundância de fôlhas das plantas desses grupos nos períodos que se seguiram ao tratamento. É que o polvilhamento, pelos próprios danos que provocou, estimulou o desenvolvimento de um número excessivo de fôlhas novas, número esse capaz de compensar perdas eventuais causadas pela queda de fôlhas basais. Mas provavelmente mesmo essa perda de fôlhas basais nos grupos 6 e 7 era pouco acentuada nos dois anos que se seguiram ao tratamento. Quanto maior quantidade de pó, originalmente espalhado sôbre as fôlhas, caiu na terra dos vasos e daí penetrou com as águas das regas para dentro do solo, tanto mais patentes se tornaram os efeitos fitotóxicos do inseticida.

Para poder explicar os fatos dessa maneira devemos, porem, supor que o B H C mantem pelo menos durante 2 anos a sua ação fitotóxica. Não executamos, é verdade, análises químicas periódicas para determinar o teor do solo, nos vasos dos diversos grupos, em isómeros de B H C que têem atividade fitotóxica. Mas fizemos algumas observações complementares, de carater biológico, que permitem tirar certas conclusões a respeito da persistência do efeito fitotóxico do B H C.

Em primeiro lugar queremos referir-nos ao comportamento das mudas "substituidas" de cafeeiro, no nosso ensáio. Mencionamos, na parte deste trabalho referente a "Material e Métodos", que as plantas de café que pereceram durante a experimentação eram substituidas por mudas sadias, da mesma origem, que foram plantadas na mesma terra, de onde o tôco dos pés mortos tinha sido arrancado. Foi feita a primeira substituição de plantas em 9/5/49 e a segunda em 19/1/50, isto é, 14 e 22 meses respetivamente após a primeira aplicação do inseticida. Extendeu-se a primeira substituição a 6 plantas, das quais uma pertencia ao grupo 1, outra ao grupo 3, e o resto ao grupo 4. Na segunda data foram substituidas 2 plantas do grupo 4, e 6 do grupo 5. Por isso os algarismos, indicados na tabela 4 para o número de fôlhas nos dois grupos de testemunhas, referem-se ao resultado de contagem de uma única planta de cada grupo, ao passo que os respetivos valores nos grupos 4 e 5 correspondem à média aritmética do número das poucas plantas substituidas destes dois grupos.

Nota-se uma queda de fôlhas em ambos os grupos em que B H C tinha sido incorporado à terra. Esse efeito mostrou-se ainda nos casos em que essa incorporação tinha sido efetuada quase dois anos antes da plantação das mudas. Queremos completar essas observações que, de fato, atestam uma ação fitotóxica prolongada do B H C no solo, pelos resultados de algumas experiências de germinação de sementes de *Brassica campestris* em vasos contendo cafeeiros.

TABELA 4

Número de fôlhas nos cafeeiros substituidos dos grupos

	1	3	4	5
	test.	10 + 10 + 11 g de talco	31g de BHC (solo)	10 + 10 + 11g de BHC (solo)
9/ 5/49 (1.ª substituição) .	103	84	86,2	
6/10/49	115	106	85,7	
22/12/49	139	117	99,2	
7/11/50	180	124	41,7	
29/ 3/51	146	135	31,7	
19/ 1/50 (2.ª substituição) .			128,5	140,6
7/11/50			100,5	90,4
29/ 3/51			82	87,8
27/ 7/51			70	79,2 [a]

[a] planta †

d) o efeito de B H C sôbre o desenvolvimento de "seedlings" de *Brassica campestris.*

Ficou mencionado, na Introdução, que R. I. STOKER (28, 1948) verificou um impedimento no desenvolvimento de "seedlings" de rabanetes (*Raphanus sativus*) sob a influência de doses relativamente pequenas de B H C. Desde então a grande suscetibilidade de seedlings de Cruciferas e especialmente de rabanetes a B H C foi confirmada por vários autores (p. e. DE WILDE, J., 5, 1948; DILLS L. E. and ODLAND, M. L., 6, 1948). Sementes dessa espécie, colocadas em terra misturada com B H C, geralmente chegam a germinar e emitir raizes; essas raizes, porém, ficam curtas, engrossam e deixam de ramificar-se; as fôlhas ficam pequenas, cloróticas, e as plantas definham e, em casos da aplicação de B H C em concentrações mais elevadas, morrem.

Resolvemos então executar alguns ensáios de germinação com sementes de *Brassica campestris* L., espécie ruderal de Cruciferas bastante frequente nos arredores de São Paulo e dotadas, como ensáios de orientação nos mostraram, de grande sensibilidade à ação do B H C. Usamos nesses ensáios o gráo de desenvolvimento das plantinhas de *Brassica* como "teste biológico" para avaliar o efeito fitotóxico do B

H C no solo. Pode parecer supérfluo extender as observações a outra espécie de plantas, já que visamos, em nosso trabalho, estudar o comportamento do cafeeiro após o tratamento com doses elevadas de B H C. Acontece, porém, que sendo o cafeeiro uma planta perene, não reage tão prontamente a fatores externos como os tenros "seedlings" de plantas anuais. Além disso, era desejavel obter informações quanto ao comportamento de *Brassica* a B H C nas nossas experiências, para poder compara-las com as indicações relativas a espécies afins, constantes da literatura, já que a respeito da influência do B H C no desenvolvimento do cafeeiro não encontramos, como foi mencionado, muitas referências a trabalhos de outros autores.

Realizamos 4 ensáios com sementes de *Brassica,* que tiveram início em 16/6/48, 22/2/49, 27/1/50 e 7/4/51 respetivamente. Em cada um desses ensáios, determinado número de sementes foi distribuido em dois vasos de cada um dos 7 grupos da nossa experiência com cafeeiros. Os 14 vasos sob observação formaram assim duas das 8 fileiras ("blocos") das quais se compunha a experiência com cafeeiros. Os dois primeiros ensáios com *Brassica* foram efetuados nos cafeeiros das mesmas duas fileiras, mas os ensáios subsequentes executaram-se em dois pares das demais fileiras. Cada um dos 14 vasos escolhidos recebeu no primeiro ensáio 50 sementes, nos dois subsequentes 30 sementes, e no último 10 sementes de *Brassica.* Nas semanas que se seguiram à semeadura, foram efetuadas observações periódicas quanto ao desenvolvimento dos "seedlings". Inicialmente pensamos que para a caraterização do efeito fitotóxico do B H C fosse suficiente notar o número de sementes germinadas em cada vaso. Mas logo verificamos que, nos vasos em que B H C foi incorporado à terra, mesmo as plantas que vingaram se distinguiram das mudas que cresciam nos vasos dos grupos "testemunhas", por um nanismo acentuado, pela clorose, e às vezes pela coloração avermelhada que as folhinhas apresentavam. A contagem do número de plantas verificadas em cada vaso, por ocasião das observações sucessivas, poderá, por isso, dar apenas ideia incompleta da diferença existente quanto ao desenvolvimento das mudas de *Brassica,* entre os vasos dos grupos "tratados" e os dos grupos "testemunhas". Mesmo assim apresentaremos primeiramente, na tabela 5, os números porcentuais de "seedlings" de *Brassica,* que germinaram e cresceram nos vasos dos diversos grupos. Depois tentaremos descrever a diferença do aspéto entre as plantas germinadas nos vasos dos vários grupos. A porcentagem de germinação das sementes de *Brassica,* utilizadas para esses ensáios, que nem nos grupos testemunhas alcançou o valor de 100, era, entretanto, bastante elevada para permitir observar a existência de diferenças entre os vários grupos.

TABELA 5

Número porcentual de "seedlings" de *Brassica campestris* L. desenvolvidas nos vasos de cafeeiros dos grupos

		1	2	3	4	5	6	7
		Test.	31g de talco (solo)	10 + 10 + 11g talco (solo)	31g BHC (solo)	10 + 10 + 11g BHC (solo)	31g BHC (polv.)	10 + 10 + 11g BHC (polv.)
Ensáio de 16/6/1948								
	30/6/48	46	47	46	32	6	28	34
	18/7/48	64	54	56	34	7	52	53
	6/8/48	58	53	54	7	0	37	5
Ensáio de 22/2/49								
	7/3/49	30	33	33	57	35	58	37
	14/3/49	28	35	35	27	13	60	37
	27/3/49	42	42	43	7	0	58	42
Ensáio de 27/1/50								
	7/2/50	82	97	67	83	80	83	88
	13/2/50	80	93	72	83	78	83	84
	9/3/50	77	95	65	82 [a]	70 [a]	80 [b]	95
Ensáio de 7/4/51								
	23/4/51	45	55	60	85	60	65	50
	27/4/51	45	55	55	85	60	65	55
	21/5/51	45 (40 grs.)	55 (20 grs.)	50 (35 grs.)	85 (5 grs.)	60 (0 grs.)	55 (15 grs.)	55 (40 grs.)

[a] plantas cloróticas; [b] plantas pequenas.

Nos dois primeiros ensáios já o número de mudas que "vingaram" algumas semanas após a semeadura, pode servir de índice para a ocorrência ou ausência de um efeito fitotóxico exercido pelo inseticida. No primeiro ensáio, por exemplo, mais de 50% das sementes distribuidas em vasos dos grupos 1, 2 e 3 deram origem a mudas que vingaram, ao passo que nos grupos 4, 5 e 7 o número de mudas sobreviventes, em 6/8/48, representa menos de 10% das sementes utilizadas. O grupo 6, apresentando na mesma data um número de mudas que corresponde a 37% do número máximo possivel, ocupa, a esse respeito, um lugar intermediário. O maior efeito fitotóxico se fez sentir nos grupos 5 e 7, isto é, nos em que a aplicação do inseticida se deu em doses parceladas. Compreende-se isso facilmente se levarmos em consideração o fato de se ter ministrado a terceira dose de B H C em 20/7/48, isto é, no curso da experimentação. Mas também nos números relativos aos grupos 4 e 6, em que a aplicação do inseticida se tinha efetuado 3 meses antes do início do ensáio de germinação com sementes de *Brassica*, reflete-se ainda bem a influência fitotóxica do inseticida.

Como já antes mencionamos, a influência do inseticida não se exprime apenas no número das plantas sobreviventes, mas ainda na maneira do desenvolvimento dessas plantas. Pode servir de ilustração à existência dessa diferença a foto 3 (est. 30), tirada em 6/7/48. O vaso, que se vê no centro da figura, pertence ao grupo 1 (test.) e as mudas de *Brassica* nele já se acham bem desenvolvidas. Nos vasos que se encontram ao lado direito (grupo 4) e esquerdo (grupo 5) da testemunha, as mudas de *Brassica* são tão pequenas ainda, que é dificil discerni-las na figura. Essa fotografia foi tirada 20 dias após a semeadura de *Brassica* e antes da aplicação da última dose do inseticida. Mas mesmo 4 semanas mais tarde, quando as mudas de *Brassica* dos vasos em que não tinha sido feita aplicação de B H C, alcançavam 10 cm., apresentando 6 fôlhas bem expandidas, as que se desenvolveram nos vasos dos grupos submetidos ao tratamento com B H C não passavam de 1 cm. de comprimento e exibiram apenas 2 ou 3 fôlhas pequenas, cloróticas, frequentemente enroladas para baixo.

O segundo ensáio foi iniciado quase um ano depois de terem os cafeeiros dos grupos 4 e 6 recebido o tratamento com B H C. Desde a aplicação da última dose do inseticida nos cafeeiros dos grupos 5 e 7, tinham então passado mais de 7 meses. Mesmo assim era muito acentuada a inibição do desenvolvimento das mudas de *Brassica*, a que servira de substrato a terra misturada com B H C nos vasos dos grupos 4 e 5. Dentro de 5 semanas todas as mudas de *Brassica*, germinadas

nos vasos do grupo 5, morreram; e nos vasos do grupo 4 só sobrava a oitava parte das inicialmente germinadas. Não só essas poucas mudas sobreviventes do grupo 5, mas também as do grupo 7, em que o inseticida tinha sido aplicado em forma de polvilhamento, caraterizavam-se pelo tamanho reduzido e pela clorose das fôlhas. Em muitas dessas mudas as raizes, definhadas e secas, já não fixavam as plantinhas no solo, de maneira que elas só se podiam manter vivas, durante certo tempo, absorvendo humidade da superfície da terra. O desenvolvimento das mudas de *Brassica* nos vasos do grupo 6, em que o inseticida fôra aplicado só uma vez e em forma de polvilhamento, era relativamente normal, contrastando até certo ponto com o das mudas dos demais grupos tratados.

Os resultados do terceiro ensáio, efetuado quase dois anos após o início da experiência com cafeeiros, não demonstraram diferenças nítidas entre os diversos grupos, se levarmos em consideração apenas o número das mudas que vingaram. Ficou entretanto fortemente inibido o desenvolvimento dos "seedlings" de *Brassica* não só nos vasos dos grupos 4 e 5, mas ainda nos grupos 6 e 7. Além da inibição do crescimento, as plantinhas em vasos de todos esses grupos, com exceção do grupo 6, exibiram ainda forte clorose das fôlhas. Pode servir de ilustração da diferença no desenvolvimento entre as plantas do grupo 3 e 5 a fotografia 4 (est. 30), tirada em 25/2/50, que mostra a inibição do desenvolvimento e a clorose das fôlhas nas mudas do vaso à esquerda, em que 2 anos antes, em 3 aplicações sucessivas, o B H C havia sido incorporado ao solo.

Também no último ensáio o efeito fitotóxico do B H C já não se reflete no número das mudas de *Brassica* que se desenvolveram em vasos que 3 anos antes tinham sido submetidos a um tratamento com esta substância; nas mudas cultivadas em vasos dos grupos 4 e 5 mostra-se porem, acentuadamente, a inibição do crescimento. Principalmente em um vaso do grupo 5, em que o cafeeiro já tinha morrido um ano antes, as mudas de *Brassica* quase não conseguiram vingar. Para possibilitar, pelo menos até certo ponto, a apreciação dessas diferenças no desenvolvimento das mudas, cultivadas em vasos dos vários grupos, acrescentamos na última linha da tabela 5, entre parênteses, o número porcentual de sementes, que deu origem a plantas grandes, bem desenvolvidas, em cada grupo.

Chama a atenção a baixa porcentagem de plantas bem desenvolvidas nos vasos dos grupos 4, 5 e 6. Indicam essas observações que, pelo menos nas condições da nossa experiência, isto é, aplicando-se doses massiças de B H C, que se distribuem por um volume relativa-

mente restrito de terra num vaso regado com regularidade, mas não exposto às precipitações atmosféricas naturais, os efeitos fitotóxicos do inseticida se fazem ainda sentir em plantas cujas sementes foram postas nessa terra mais de 3 anos após a aplicação do inseticida.

e) o efeito de B H C no desenvolvimento do sistema radicular dos cafeeiros.

Não é objetivo primordial deste trabalho analizar as razões da reação, por nós observada, que as mudas de cafeeiro apresentaram após tratamento com doses massiças de B H C. Algumas conclusões podiam tirar-se, entretanto, da ordem cronológica em que as plantas dos diversos grupos chegaram a definhar e, eventualmente, a perecer. Eram severamente afetados primeiramente os representantes dos grupos 4 e 5, e só muito mais tarde verificaram-se casos de definhamento também nos grupos 7 e — em menor gráo — 6. Isso indica que o efeito mais drástico e rápido se verificou nas plantas cultivadas em terra misturada com inseticida. O efeito fitotóxico do B H C nos vasos em que os cafeeiros tinham sido polvilhados com essa substância — abstraindo-se o efeito direto da queimada das fôlhas novas — manifestou-se mais tarde, presumivelmente não antes que parte desse inseticida tivesse penetrado na terra.

Todos esses exemplos de uma ação fitotóxica de B H C, exercida pelo inseticida incorporado ao solo, fazem supor que talvez essa substância interfira no funcionamento normal do sistema radicular.

Não efetuamos, entretanto, experiências a esse respeito. Desenterramos, porém, em 9/4/51, duas plantas de cada um dos 7 grupos, incluidos na experiência, e comparamos o desenvolvimento do sistema radicular das plantas dos vários grupos. A figura 5 (est. 31) permite avaliar as diferenças que a esse respeito existem entre as plantas de alguns grupos. Essa figura mostra, na extrema esquerda, um exemplo do desenvolvimento do sistema radicular de uma planta, pertencente ao grupo 1 (testemunha). Seguem na mesma figura, da esquerda para a direita, exemplos representativos dos grupos 4, 5 e 7. Nota-se, nestes 3 últimos, grande carência de raizes fibrosas e principalmente de radicelas. Ficou quasi reduzido a uma raiz principal (pouco eficiente para absorpção de água e dos sais nela dissolvidos), o sistema radicular das plantas dos grupos 4 e 7. Não é de extranhar que na planta que nessa figura representa o grupo 5, a redução do sistema radicular não chegasse ainda a esse extremo, pois essa é uma das que só em 19/1/50 foram plantadas nos respetivos vasos, em substituição de mudas que haviam morrido.

Para essa fotografia não foram escolhidos casos em que a diminuição do sistema radicular se tornasse especialmente patente. Em outra fotografia (fig. 6, est. 31), tirada no mesmo dia, acham-se reunidos, da esquerda para a direita, exemplos do desenvolvimento do sistema radicular de representantes dos grupos 1, 4, 5 e 6. Também nesse caso o cafeeiro do grupo 5 só foi plantado em 19/1/50 na terra contendo o inseticida, em substituição de uma planta já morta nesta mesma terra. A planta do grupo 4 pertencia ao lote de mudas replantadas em data anterior, isto é, em 6/5/49. As plantas representativas dos grupos 1 (testemunha) e 6 (31 g de B H C, polvilhamento) tinham permanecido desde o início do ensáio (13/3/48) nos respetivos vasos. Também essa fotografia ilustra bem a forte redução e às vezes a supressão completa, em número e desenvolvimento, das raizes mais finas das plantas de todos os grupos que tinham sido submetidos ao tratamento com B H C. O sistema radicular dos cafeeiros dos grupos 2 e 3, nos quais se incorporava talco ao solo e que não estão representados nessas figuras, mostrou um desenvolvimento igual ao das plantas do grupo 1 (test.).

DISCUSSÃO

Foram publicados recentemente alguns excelentes apanhados de literatura acerca dos efeitos fitotóxicos dos inseticidas modernos. Quero mencionar aqui principalmente os trabalhos de Mc Kelvey, J. J. y D. Parker (18, 1948), Meltzer, J. (19, 1950) e Foster, A. C. (9, 1951).

Em vista disso, podemos restringir-nos aqui à comparação das nossas observações com os resultados daqueles trabalhos, em que foi utilizada uma técnica semelhante à adotada em nossos ensáios ou em que as mesmas espécies de plantas foram submetidas a um tratamento.

A técnica que seguimos caracteriza-se pela dose elevada de substância ativa, que deixamos agir sôbre cada planta.

Referindo-nos, em primeiro lugar, aos tratamentos em que o inseticida foi incorporado ao solo, queremos lembrar que no caso das plantas do grupo 4, 31 g de B H C, com um teor de 6% do isómero gama, foram misturadas com cerca de 2 litros de terra. Disso pode-se deduzir que cada cc de terra, na camada superior do vaso, continha 0,930 mg do isómero gama de B H C. No caso de aplicação parcelada do inseticida (grupo 5), calcula-se que em cada aplicação cada cc de terra recebeu 0,3 mg do isómero gama. Nas aplicações por polvilhamento (grupo 6 e 7) as quantidades totais de substâncias ativa (1,86 e 0,6 g resp.) foram espalhadas sôbre a planta toda. Na maioria dos trabalhos executados com inseticidas, a quantidade de subs-

tância ativa é calculada por área e não por planta ou por volume de terra, que dificulta a exata comparação com os nossos dados. Existem, porém, alguns trabalhos cujos resultados permitem uma comparação com as nossas observações e entre esses queremos mencionar em primeiro lugar os ensáios efetuados por J. LHOSTE et L. RAVAULT (16, 1948), relativos ao efeito de alguns inseticidas orgânicos, incorporados à terra, no trigo e na ervilha. Nas experiências dos referidos autores as sementes das plantas em estudo foram colocadas sôbre areia misturada com quantidades determinadas de um pó contendo 10% da substância ativa. Nas plantas do primeiro grupo uma quantidade pequena do pó contendo 10% de substância ativa foi misturada com a areia, e em cada um dos 4 grupos subsequentes foi utilizado um peso cada vez mais elevado desse pó. Os grupos, chamados C, D e E pelos autores, continham 10, 20 e 40 mg respetivamente do princípio ativo, por 100 g de areia. Levando em consideração o peso específico da areia, o grupo D do referido trabalho pode ser comparado, quanto ao teor de substância ativa, com o nosso grupo 5, ao passo que o nosso grupo 4 supera algo, a esse respeito, ao grupo E do trabalho de LHOSTE et RAVAULT. Da tabela 2 do mencionado trabalho podemos inferir que a germinação (própriamente dita) das sementes de trigo nos grupos D e E não foi afetada. A porcentagem de germinação nesses grupos — e aliás também nos grupos contendo menor concentração do inseticida — foi antes favorecida. Verificou-se, porém, nas observações realizadas 8 dias depois da semeadura do trigo, uma forte inibição do crescimento das raizes, assim como da coleoptile e da fôlha primária. Para citar apenas um exemplo, queremos mencionar o tamanho médio de fôlha, coleoptile e raiz das mudas de trigo, após 7 dias de cultivo no grupo D, que alcançaram então 0,6, 0,6 e 0,3 cm., ao passo que as testemunhas desenvolvidas em areia atingiram, no mesmo lapso de tempo, um tamanho correspondente a 21, 4,5 e 11 cm. Os autores dão uma descrição detalhada da atrofia radicular que se manifesta sob a influência dessas doses de B H C. Essa atrofia é caracterizada pelo engrossamento da região da coifa, encurtamento geral e falta ou escassez de ramificações e de radicelas. Sob o efeito de B H C as raizes geralmente adquiriram uma coloração marron. Ao mesmo tempo também a coleoptile sofre alterações teratológicas, apresentando uma forma globular.

Também nos ensáios com B H C, publicados por EHRENHARDT (8, 1951) foram empregadas concentrações de B H C que podem ser comparadas com as por nós escolhidas. Numa série de experiências o referido autor estudou o crescimento de "seedlings" de trigo em areia, misturada com B H C. Foram comparados os efeitos de 8 doses cres-

centes de B H C. Nos vasos com a concentração mais forte, 1 cc de terra peneirada encerrava 2 mg do isómero gama de B H C, ao passo que nos vasos com a dosagem mais fraca, o mesmo volume de terra continha apenas 0,0005 mg. É evidente que as concentrações empregadas em nossas experiências ficam entre esses dois extremos, aproximando-se, porém, mais das dosagens elevadas de EHRENHARDT. A respeito dos efeitos fitotóxicos observados em diferentes concentrações de B H C, o autor verificou que, entre 0,04 e 2 mg de isómero gama de B H C por cc de terra, o comprimento da coleoptile e da fôlha diminue com o aumento da dose de inseticida. Observou-se encurtamento das coleoptiles, encarquilhamento das pontas das fôlhas e contorções das fôlhas, assim como rachaduras e clorose delas. As alterações observadas nas raizes coincidem com as já descritas por LHOSTE e RAVAULT. EHRENHARDT não estudou apenas a influência que o B H C exerce no *alongamento* dos orgãos vegetais, mas procurou também averiguar a influência desse inseticida no *peso scco*. A esse respeito, chegou à conclusão de que a redução do comprimento e a do peso seco, provocadas por determinada concentração de B H C, são aproximadamente equivalentes. É esse resultado bastante interessante, porque num trabalho publicado pouco tempo antes, GEISLER E. (10, 1950) tinha defendido a opinião de que doses massiças do B H C influiam no *alongamento* dos orgãos muito mais do que na *formação de substância*. Parece, porém, de acordo com os resultados de EHRENHARDT, que essa afirmativa, pelo menos numa formulação geral, não pode ser mantida.

Entre as demais observações de GEISLER, merecem ser destacadas as que se referem à influência de B H C no processo de germinação. De acordo com o que já tinha sido afirmado por LHOSTE et RAVAULT, GEISLER não encontrou efeito desfavoravel do B H C nas primeiras fases de germinação. O número porcentual de grãos de trigo germinados nos primeiros dias após o início de ensáio era igual nas caixas com grãos testemunhas e nas contendo sementes tratadas com B H C. Às vezes a porcentagem da germinação até era estimulada pelo inseticida. Diferenças acentuadas entre as sementes testemunhas e as tratadas só se faziam sentir 4 ou 6 dias após o início do ensáio; e essas diferenças provinham da forte inibição do alongamento da muda, sob a influência do inseticida.

Alguns dos fenómenos descritos pelos mencionados autores coincidem com os que ocorreram em nossos próprios ensáios. Verificamos, por exemplo (veja tabela 1), uma inibição do alongamento dos cafeeiros sob a influência do B H C. Também as mudas de *Brassica* nos vasos dos grupos submetidos a um tratamento com B H C não alcançaram o comprimento das testemunhas e exibiam, às vezes, fôlhas clo-

róticas. A porcentagem de germinação dessas sementes de *Brassica* nos dias que imediatamente se seguiram à semeadura, não era inferior à das sementes postas nos vasos dos grupos testemunhas; mas nas semanas subsequentes as mudas já saídas das sementes começaram a perecer sob a influência do inseticida. Por outro lado, em alguns pontos não ha concordância entre os resultados dos trabalhos, até agora mencionados, e as nossas observações. Isso não é de extranhar, já que o material de experimentação de todos esses trabalhos é constituido por plantas herbáceas, anuais, que não reagem às condições externas da mesma maneira que as plantas perenes. Acrescentaremos, portanto, algumas referências a trabalhos relativos a plantas arbóreas, embora não permitam, com relação à dosagem de B H C, uma comparação exata com os nossos ensáios.

HUSSEIN, M. (12, 1946) pulverizou Citrus e outras plantas arbóreas com uma suspensão contendo 5% B H C, sem observar nas plantas tratadas nenhum efeito fitotóxico. As mesmas espécies não sofreram dano algum pelo polvilhamento com um pó contendo 20% B H C.

BROMLEY, S. W. (1, 1947) tratou mais de 40 diversas espécies de arbustos e árvores, entre elas *Acer, Juglans, Malus* e *Quercus*, com um pó contendo 10% de B H C, sem que as plantas tivessem sofrido efeitos desfavoráveis.

GÜNTHART, E. (11, 1945) (com o fim de controlar lagartas vivendo na terra) regou árvores com uma calda contendo 1% de um produto do teôr de 1,6% de isómero gama de B H C. Um caso de inibição passageira de crescimento foi observado em árvores frutíferas, que receberam, por pé, 10 litros (= 1,6 g do isómero gama) da referida calda. Este mesmo volume da calda, empregado por pé em *Spiraea* sp. provocou até lesões nas raizes.

Videiras, regadas com menores quantidades dessa calda, reagiram, temporariamente, por inibição de crescimento.

Está-se difundindo, cada vez mais, o uso de B H C em viveiros de plantas florestais (veja a discussão de WELLENSTEIN (29, 1951). Persistem porém, como se pode inferir dessa mesma discussão, dúvidas quanto às quantidades de B H C, por pé, que para árvores de diversas espécies, podem ser empregadas sem o risco de prejudicar as plantas.

Seria naturalmente de mui grande interesse para nós, poder comparar as observações por nós realizadas em cafeeiros com os resultados obtidos na mesma espécie por outros autores. De fato, ha algumas indicações na literatura acerca do uso de B H C em Kenya, Africa, para o controle da broca do tronco do cafeeiro. De acordo com as indicações de ROBERTSON, J. K. (21, 1949) usou-se "gammexane wettable powder (D. P530)" em suspensão aquosa sôbre troncos

de cafeeiros. Já que o modo de aplicação e provavelmente as concentrações de substâncias ativas utilizadas diferiam consideravelmente das condições do nosso ensáio, os resultados não são diretamente comparáveis. Não se refere ROBERTSON a efeitos fitotóxicos do tratamento.

Até agora procuramos, nesta discussão, reunir dados de outros autores, relativos a efeitos fitotóxicos causados pelo tratamento de plantas herbáceas, assim como arbóreas, pelo B H C. Precisamos ainda acrescentar algumas considerações quanto às qualidades especiais de B H C que estão em relação estreita com o efeito fitotóxico dessa substância, a saber, quanto à sua persistência no solo, sua capacidade de penetração, e composição heterogênea do produto comercial de B H C. Quanto à persistência do B H C no sólo, é essa uma qualidade bastante valiosa, do ponto de vista de aplicação prática, já que um efeito duradouro dispensa, em muitos casos, a repetição do tratamento. Assim, por exemplo, MUNGOMERY, R. W. (20, 1950) refere-se à proteção conferida a um canavial, durante 3 anos seguidos, por um único tratamento com B H C. JAMESON, H. R., F. J. D. THOMAS and R. C. WOODWARD (14, 1947) mostraram que tratamentos executados num campo de cereais no outono são bastante eficientes ainda para o controle dos insétos nocivos da plantação subsequente, na primavera. SMITH, M. S. (27, 1948) averiguou que num determinado ensaio 80-94% do B H C, incorporado ao solo 18 meses antes, podia ser recuperado.

Por outro lado porém, justamente a persistência do B H C no solo pode constituir um perigo para a plantação, seja porque repetidas aplicações com doses pequenas e inócuas podem vir a prejudicar o desenvolvimento de plantas devido a um efeito acumulativo, seja porque as culturas organizadas no terreno antes tratado com B H C se componham de espécies de plantas mais suscetíveis ao B H C de que as da plantação original. FOSTER, A. C. (9, 1951) verificou que, num solo de estufa tratado com dose média de B H C, a metade da quantidade aplicada persistiu ainda depois de 3 anos. Nossas próprias observações dos sintômas que mudas de cafeeiro apresentaram quando plantados em solo ao qual tinha sido incorporado B H C um ou dois anos antes, concordam plenamente com esses resultados obtidos por FOSTER. A ação persistente de B H C, representando em casos de uma repetição anual de tratamento, um perigo potencial para as culturas, perigo que poderia mostrar-se após um lapso de muitos anos, é exposta por FOSTER (lugar citado, pag. 37) com maiores detalhes. Aqui só queremos mencionar, de passagem, a necessidade de contar com tais possibilidades, principalmente no caso de aplicação de B H C em culturas perenes, arbóreas.

Há, por outro lado, algumas referências de literatura ao baixo poder de penetração do B H C no solo. Se essas indicações se confirmarem, deveriamos considerar essa qualidade bastante favoravel para o caso de polvilhamento de cafezais com B H C, já que o baixo poder de penetração no solo poderia contribuir para excluir ou pelo menos para diminuir danos, que as raizes do cafeeiro pudessem sofrer em consequência do tratamento. Nas experiências de SCHWERDTFEGER, F. (22, 1950), executadas em cilindros de vidro cheios de terra e cobertos por fina camada de B H C, quando foram expostos esses cilindros durante 18 dias à influência de precipitações naturais e artificiais, o inseticida penetrou, de acordo com os resultados de testes biológicos, apenas até a profundidade de 6 cm, na terra. Relaciona-se isso provavelmente com a pouca solubilidade de B H C em água. Parece-nos, porém, provavel que a penetração do B H C dependa também do tipo do solo e do lapso de tempo durante o qual ele estiver exposto às condições climaticas. Em nosso ensáio, em todo caso, o pó polvilhado sôbre as fôlhas dos cafeeiros nos vasos dos grupos 6 e 7 penetrou na terra em profundidade suficiente para que o desenvolvimento das raizes sofresse impedimento.

Devemos finalmente também mencionar aqui que presentemente já existem no mercado produtos mais puros e provavelmente de ação menos fitotóxica do que o B H C técnico, que utilizamos em nosso ensáio. O B H C técnico sobre cujos carateres principais os trabalhos de LEPAGE, H. S., O. GIANOTTI e A. ORLANDO (15, 1948) e de MELTZER, J. (19, 1950) contêm indicações detalhadas, representa uma mistura de pelo menos 4 isómeros, 1, 2, 3,4, 5, 6 — hexaclorciclohexano, designados pelas letras alpha, beta, gama e delta. Existem, além disso, no produto técnico, como GEISLER, E. (10, 1950) demonstra impurezas compostas de fenóis. Em experiências realizadas,, entre outros autores, por GEISLER e por MAYER A. (17, 1950) foi demonstrado que o isómero delta tem grande poder fitotóxico e que as impurezas, contidas no produto técnico, exercem influência inibidora no crescimento das plantas. Parece ainda, que alguns efeitos fitotóxicos, provocados pelo produto técnico, provêm da ação sinérgica dos vários isómeros (MAYER, A. 17, 1950).

A fabricação, primeiramente por firma americana e agora também por empresas alemãs, de um produto chamado "Lindâne", que se compõe de 99 a 100% de puro isómero gama de B H C, permite explorar novas possibilidades. É verdade que também o isómero gama, em concentrações elevadas, tem ação fitotóxica; mas os efeitos provocados por substâncias não essenciais para o combate aos insétos podem possivelmente, pelo uso de Lindâne, ser grandemente diminuidos.

Levando em consideração os diversos fatores que até agora consideramos e que podem acentuar ou abrandar eventuais efeitos fitotóxicos de inseticidas, podemos tecer algumas considerações práticas baseadas em nossas observações. Queremos deixar aqui bem claro que, ao planejar o nosso ensáio, não tivemos intenção de reproduzir as condições reinantes no cafezal. Trabalhamos com doses mais elevadas de B H C do que as recomendadas para a aplicação prática. Essas doses se distribuiram por pequeno volume de terra, em que as perdas por lavagem das águas de regas são inferiores às que ocorrem no solo natural do cafezal. Os pés adultos de café resistem possivelmente mais à ação do inseticida do que as mudas de 3 anos de idade, utilizadas em nosso ensáio. Além disso, no cafezal o inseticida não é incorporado ao solo, como se fez nas plantas dos grupos 4 e 5 de nosso ensaio, mas apenas polvilhado sôbre os cafeeiros.

Mesmo assim achamos que algumas conclusões do nosso ensáio oferecem interesse também do ponto de vista prático. O cafeeiro é uma planta que, em certas condições, pode sofrer danos pelo tratamento com B H C. Já sabemos, pelo nosso ensáio, que essa planta reage a doses excessivas de B H C por inibição do alongamento do caule, enrugamento das fôlhas novas, e principalmente pela queda de fôlhas basais. Sintomas dessa natureza, se ocorrem no cafezal tratado com B H C, podem servir de advertência para que não sejam continuados ou repetidos, sem prévio exame mais detalhado, os tratamentos com B H C. Apezar da sua enorme utilidade atual na luta contra a broca de café, o B H C não deve ser considerado ainda como inseticida ideal. Seria desejavel dispor de um produto de menor ação fitotóxica e de persistência menos prolongada no solo. Se tal produto surgir no mercado, poderia ser empregado alternado com o B H C, ou como sucedâneo. Talvez, também, com o emprego de B H C em forma de pulverizações em lugar de polvilhamentos ou com o uso de "Lindâne" possa ser reduzido o perigo da acumulação de substâncias tóxicas no solo.

Para evitar quaisquer efeitos desfavoráveis às plantas do cafezal, é de suma importância usar o inseticida em concentrações moderadas. Preconiza SEIXAS, C. A. (24, 1948, pg. 82) para o cafezal o emprego de uma mistura que contenha 1% ou, no máximo, 2% do isómero gama.

Por outro lado foi recomendada por DUVAL, G. (7, 1949, pg. 100) outra modalidade do polvilhamento dos cafezais, que consistiria no polvilhamento do chão da lavoura cafeeira com quantidades relativamente pequenas de um produto de elevado teor em isómero gama. Prevê DUVAL a aplicação de 14 g de B H C contendo 6% do isómero gama,

por pé. É evidente que essa forma de aplicação de inseticida já se aproxima bastante da adotada em nosso ensáio, em que os efeitos fitotóxicos, observados no decurso de 3 anos, eram verdadeiramente catastroficos.

Conhecendo agora de que modo o cafeeiro reagirá a efeitos fitotóxicos de B H C, pretendemos futuramente realizar, com dosagens mais fracas desse inseticida, ensaios que se extenderão porém por maior lapso de tempo.

THE INFLUENCE OF HEAVY DOSES OF B H C ON THE DEVELOPMENT OF POTTED COFFEE-PLANTS

Abstract

1) The experiment described in this paper was planned to study the type of symptoms that would be displayed by coffee plants treated with excessive doses of hexachlorocyclohexane (B H C). This insecticide is largely used in Brazil for the dusting of coffee plants against the coffee borer.

2) The total dose of insecticide applied to each treated plant was 31g of B H C powder, containing 6 percent of its gamma isomer. This dose of insecticide contains about the same quantity of active substance, which according to SEIXAS, *C. A. (23, 1947) a coffee tree in the plantations, in the course of 4 annual applications of powder containing 1 percent gamma isomer, would receive.*

3) The treatments were applied to 3-year-old coffee-plants grown in 20 cm pots with a capacity of 4 litres of soil. On March 13, 1948, 56 plants were divided into 7 groups of 8 plants each. The first group consisted of check plants. The plants of the second and third groups received 31g of talcum powder. In the case of the 2nd group the total amount of the powder was mixed with the upper half of the soil of each pot. The plants of the 3rd. group received at that time only 10g of this powder and successively 10 and 11g of talcum, in intervals of one month and a half. In the same way, the plants of group 4 and 5 were treated with 31g of B H C, which, in group 4 was mixed with half of the soil of the pots and in group 5 was given in a similar way, but in 3 successive applications. The coffee trees of the remaining two groups were dusted with a total amount of 31g of B H C, applied at once to the plants of group 6 and in form of three separate portions of 10, 10 and 11g, to the plants of group 7.

4) Since March 1948, the coffee plants, divided into 8 rows, organized in a way similar to a latin square, were kept in a greenhouse and maintained under observation.

5) After dusting, the plants of groups 6 and 7 showed slight burning damages on the shoot tips and tender leaves, which in some of them turned black and died. As a consequence, in the same plants, after some weeks, there developped axillary shoots and many leaves from dormant buds. About a fortnight after the treatment the plants of group 4 and 5 displayed a slight wilting (Fig. 1), which although sometimes scarcely noticeable, was very persistent. On May 9, 1949, that is, 14 months after the beginning of this experiment, 4 plants of group 4 (as well as one plant of groups 1 and 3) had died and had to be replaced by healthy ones. On January 19, 1950, a second set of plants, which had died in the meantime, had to be replaced. Four of them belonged to group 5, the remaining two to group 4.

6) During the first year of our experiment the length of the main shoots of the coffee trees of the various groups was measured, at regular intervals. The results of these measurements are condensed in Table I, pg. 224. Chart 1 illustrates the relative growth of the plants of the 7 groups in the first year of the trial. The plants of groups 4 and 5, in which the insecticide had been mixed with the soil, showed a markedly inhibited growth, whereas the growth rate of the plants of groups 6 and 7 which had been dusted with B H C, was apparently normal. In these groups secondary shoots had taken over the growth of the main shoot.

7) About two months after the beginning of our experiments, we verified that some plants of the groups 4 and 5 started dropping their basal leaves (Fig. 2). From then on, at regular intervals, we counted the number of leaves, still fixed to the plants of the several groups (Table 2). Thus, we learned that 6 months after the beginning of these observations, the plants of group 4 displayed only about half the number of leaves found in the check groups. By that time, also, the plants of group 5 had dropped part of their leaves, whereas the plants of groups 6 and 7 (dusted) had maintained or even increased their original leaf number. Later on in groups 4 and 5 the results of the counts ceased to be directly comparable with those of the other groups, because the greater part of the plants of these groups had by that time died and had been replaced by healthy trees. We continued, however, counting the leaves of the original plants of the remaining groups and verified (Table 3, pg. 227) that, three years after the treatment, the plants of groups 6 and 7 (where dusting had been

applied), also displayed only about half the original number of leaves. Even the healthy plants, potted on May 9, 1949 and January 19, 1950, respectively, into the soil of the plants of the groups 4 and 5, which had died in the meantime, started loosing a great part of their leaves (Table 4, pg. 229). These observations prove that the phytotoxic effect of the B H C in the soil persisted at least during 2 years.

8) With the purpose of getting further information on the persistence of the phytotoxic effect of B H C in the soil, we organized yearly germination tests with seeds of Brassica campestris L. (a species very susceptible to the action of B H C). The Brassica seeds in each of the 4 tests were placed in two pots of each of the 7 groups of coffee plants. The general results of these tests can be summarized by stating that the seedlings growing in the pots of groups 4 and 5 showed a clear-cut inhibition of the development and chlorosis of the leaves in all tests but the last one. In this last test, the phytotoxic effect on the Brassica plants growing in the soil mixed with B H C of the pots belonging to group 4 and 5, was slighter, although still noticeable. The plants growing in pots belonging to the groups 6 and 7 (B H C dusted) displayed phytotoxic effects produced by the insecticide in the first, third and, more slightly in the fourth test. The results of our observations on the number of surviving seedlings in percentage of the seeds of Brassica during the 4 tests are given in table 5, pg. 231. These numbers represent a clear-cut picture of the harmful effect of B H C on the development of the seedlings only in the more extreme cases. The photograph (Fig. 3) taken on July 7, 1948, during the first germination test, shows the development of the Brassica seedlings in a pot of the group 1 (center) in comparison with those growing in pots of groups 4 (right) and 5 (left). The photograph (Fig. 4) taken during the 3rd germination test illustrates the differences in the development of the seedlings grown in pots of groups 3 (right) and 5 (left).

9) In order to compare the root development of the coffee plants of the various groups, we dug out on April 9, 1951, two of the plants of each group and took pictures of their root system.

Fig. 5, (left), shows the underground parts of a test plant (group 1,) and (from left to right) of representatives of groups 4, 5 and 7. Fig. 6 is another example of the development of the root system of coffee plants belonging (from left to right) to groups, 1, 4, 5 and 6. The harmful effect of B H C on the root development is quite pronounced in all groups, the plants of which had been submitted to treatments by this insecticide (groups 4, 5, 6 and 7).

10) In the discussion of the results we point out that our experiment was not aimed at reproducing the conditions occurring in treated coffee plantations. We applied to the plants B H C powder with a higher content of gamma-isomer (6 percent) than is generally recommended for practical use (1 or 2 percent). Furthermore the plants submitted to the treatments were in our case only 3 years old and potted. Finally, in the plants belonging to groups 4 and 5 the insecticide was mixed with the soil, whereas in the coffee plantations the application of the insecticide is done by dusting of the coffee trees (as in groups 6 and 7 of our experiment). In spite of the special conditions, under which our experiment was performed, some conclusions may be drawn from its results, which are also interesting from a practical point of view.

a) The coffee plant does not belong to the group of species unsusceptible to B H C treatment.

b) The possibility of an accumulation of poisonous substances in the soil must be taken into consideration, principally in plantations, where the treatments involving the use of B H C are continued over a period of at least 2 successive years.

c) It seems worthwhile to study the possibility of replacing B H C by products of the same specific insecticide activity, but of lower phytotoxic effect and lesser persistence in the soil.

d) From the point of view of possible phytotoxic effects, the method of dusting the ground of coffee plantations with relatively small amounts of a B H C powder possessing a high gamma-isomer content (as recommended by Duval, 1949), does not seem advisable.

BIBLIOGRAFIA

1) Bromley, S. W. — 1947 — Recent advances in control of ornamental and shade tree insects.
Journ. of Econ. Entomol. **40** : 237-39.

2) Brooks, J. W. and L. D. Anderson — 1947 — Toxicity tests of some new insecticides.
Journ. of Econ. Entomol. **40** : 220-228.

3) Cates, S. — 1948 — Handle with care DDT, Chlordane, Toxaphene, BHC.
Country Gentleman, 1948, 65.

4) Cullinan, F. P. — 1947 — Effect of some of the newer organic chemicals on plant life.
Agric. Chem. **2** : 18-20.

5) De Wilde, J. — 1948 — Over de ontdekking en enkele insecticide eigenschappen van het insecticide hexachloorcyclohexaan.
Meded. Dir. Tuinbouw **11** : 304-310; Ref. em Meltzer, pg. 135.

6) Dills L. E. and M. L. Odland — 1948 — Cabbage maggot insecticide tests.

Journ. of Econ. Entomol. **41** : 98-101.

7) Duval, G. — 1949 — Progressos no combate à broca do café com hexacloreto de benzeno.
O Biológico (São Paulo) **15** : 85-102.

8) Ehrenhardt, H. — 1951 — Untersuchungen über den Einfluss von Hexachlorcyclohexan auf die Keimung von Samen und das Wachstum der Pflanzen.
Mitt. Biol. Zentralanstalt f. Land = und Forstwirtschaft, Pflanzenschutztagung, **70** : 93-95.

9) Foster, A. C. — 1951 — Some plant responses to certain insecticides in the soil.
U. S. Dept. of Agriculture, Circular N.º 862, 41 pg.

10) Geisler, E. — 1950 — Einige Beobachtungen über den Einfluss des Hexachlorcyclohexans auf die Pflanze.
Nachrichtenblatt d. Deutsch. Pflanzenschutzdienstes **2** : 131-135.

11) Günthart E. — 1947 — Die Bekämpfung der Engerlinge mit Hexachlorcyclohexanpräparaten.
Mitt. d. Schweiz. Entom. Ges. **20** : 45.

12) Hussein, M. — 1946 — Preliminary tests on the use of crude benzene hexachloride (or 666) against locusts and grasshoppers.
Bull. Soc. Fouad I. Entom. **30** : 155-166.

13) Ivy, E. E. and K. P. Ewing — 1946 — Benzene hexachloride to control cotton insects.
Journ. of Econ. Entom. **39** : 38-41.

14) Jameson H. R., F. J. D. Thomas and R. C. Woodward — 1947 — The practical control of wireworms by gamma B H C (Gammexane): Comparisons with DDT.
Ann. appl. Biol. **34** : 346-356.

15) Lepage, H. S., O. Giannotti e A. Orlando — 1948 — Considerações gerais sôbre o inseticida hexacloreto de benzeno (B H C ou 666).
O Biológico (São Paulo) **14** : 91-96.

16) Lhoste, J. et L. Ravault — 1948 — Effets sur blé et pois, de quelques insecticides organiques de synthèses, employés comme désinfectants du sol.
Revue Horticole, Nouvelle Série **31** : 287-294.

17) Mayer, A. — 1950 — Wachstumsbeeinflussungen durch die Reinisomere des Hexachlorcyclohexan.
Mitt. Biol. Zentralanst. f. Land = und Forstwirtschaft, Pflanzenschutztagung **70** : 98-103.

18) Mc Kelvey, J. J. y D. Parker — 1948 —Nuevos insecticidas.
Officina de estudios especiales, Secretaria de Agricultura y Ganaderia, Mexico, Folleto Tecnico N. 2.

19) Meltzer, J. — 1950 — Eigenschappen en giftigheid van hexachloorcyclohexaan.
Tijdschrift over Plantenziekten **56** : 101-148.

20) Mungomery, R. W. — 1950 — The status of benzene hexachloride in the control of some Queensland sugar cane pests.
VII. Congress of the Internat. Soc. of Sugar cane Technologists, Brisbane, Sept. 1950.

21) Robertson, J. K. — 1949 — The control of white stem borer (Anthores leuconotus) in Arabica coffee.
The Coffee Board of Kenya, Monthly Bull. **14** : 203-204.

22) Schwerdtfeger, F. — 1950 — Weitere Untersuchungen zur Engerlingsbekämpfung mit Hexa-Mitteln.
Mitt. Biol. Zentralanstalt f. Land = und Forstwirtsch., Pflanzenschutztagung **70** : 83-84.

23) Seixas, C. A. — 1947 — Controle químico da broca de café.
O Biológico (São Paulo) **13** : 215-228.

24) Seixas, C. A. — 1948 — A prática do combate químico à broca do café.
O Biológico (São Paulo) **14** : 71-89.

25) Seixas, C. A. — 1948 — Prova de bebida de cafés tratados com inseticidas para combate à broca.
O Biológico (São Paulo) **14** : 163-164.

26) Slade, R. — 1945 — Gammexane, an insecticide with outstanding properties.
The Industr. Chemist **21** : 173-175.

27) Smith, M. S. — 1948 — Persistence of DDT and Benzene Hexachloride in Soil.
Nature **161** : 246.

28) Stoker, R. — 1948 — The phytotoxicity of DDT and of Benzene Hexachloride.
Ann. of appl. Biol. **35** : 110-122.

29) Wellenstein — 1951 — Discussão em
Mitt. aus Biol. Zentralanstalt f. Land = und Forstwirtchaft., Pflanzenschutztagung **70** : 97.

FIGURAS

1) Da direita para a esquerda — cafeeiros pertencentes ao grupo 1, 2, 4 e 6, respetivamente, fotografados em 1/4/48, i.e. 18 dias após o tratamento.
A planta do grupo 4 apresenta "murcha" das folhas (foto Mazza).

2) Cafeeiros pertencentes aos grupos 5 (centro), 1 (direita) e 3 (esquerda), fotografados em 6/7/48. A planta tratada, no centro, carateriza-se pela perda das fôlhas basais. (foto Mazza).

3) Cafeeiros, pertencentes aos grupos 1 (centro), 4 (direita) e 5 (esquerda), fotografados em 6/7/48. As plantas, ladeando a testemunha, caraterizam-se pela perda das fôlhas basais. Mudas de *Brassica*, desenvolvendo-se nos dois vasos tratados, caraterizam-se pela inibição do crescimento. (foto Mazza).

4) Vasos de cafeeiros do grupo 3 (direita) e 5 (esquerda) mostrando o impedimento do desenvolvimento de mudas de *Brassica* no vaso à esquerda. (foto Mazza, 25/2/50).

5) Da esquerda para a direita desenvolvimento do sistema radicular de cafeeiros pertencentes ao grupo 1 (test.), 4 (31g B H C, solo), 5 (10+10+11g B H C, solo), 7 (10+10+11g B H C, polv.).
A redução do sistema radicular nos vasos dos grupos tratados é patente. (foto Vicente, 9/4/51).

6) Da esquerda para a direita desenvolvimento do sistema radicular de cafeeiros pertencentes ao grupo 1 (test.), 4 (31g B H C, solo), 5 (10+10+11g B H C, solo) e 6 (31g B H C, polv.).
A redução do sistema radicular nos vasos dos grupos tratados é patente. (fot. Federmann, 9/4/51).

———o———

Fig. 1

Fig. 2

Fig. 3

Fig. 4

Fig. 5

Fig. 6

Vol. 20 — Art. 22 Dezembro de 1951

UMA NOVA PRAGA DAS ORQUIDÁCEAS: TENTHECORIS FIGUEIREDOI CARVALHO, 1950 (HEMIPTERA, MIRIDAE, BRYOCORINAE)

POR

E. R. de Figueiredo Jr.

Eng.º Agr.º do Instituto Biológico

Com 5 figuras no texto

Há cêrca de dois anos fomos surpreendidos com o aparecimento de um novo hemiptero depredador de orquidáceas, o qual, embora apresentando caractéres comuns ao gênero *Tenthecoris*, diferia essencialmente da espécie, muito comum entre nós, *T. bicolor*, não só quanto ao colorido geral e às dimensões, mas também quanto aos hábitos, muito diversos dos dessa espécie.

Enviamos, então, vários exemplares ao especialista do grupo, Dr. J. C. M. Carvalho, do Museu Nacional, dele obtendo a confirmação de nos acharmos em face de espécie nova para a ciência. Assim, foi esse novo hemiptero descrito como *Tenthecoris figueiredoi* CARVALHO (1). A esse distinto colega muito agradecemos a homenagem que nos prestou, dedicando-nos a nova espécie.

HÁBITOS DO INSETO

Um dos pormenores, que logo nos despertou a atenção, foi o fato deste hemiptero não atacar as mesmas plantas que o *T. bicolor*. Enquanto este último prefere as orquidáceas dos gêneros *Laelia* e *Cattleya*, inclusive os híbridos deles originários, o *T. figueiredoi* nunca foi observado nessas plantas. Em contraposição, tem sido verificado em exemplares dos gêneros *Dendrobium, Gomeza, Oncidium* e *Newtonia*, plantas nunca infestadas pelo *T. bicolor*.

Além disso, ao invés de permanecerem no orquidário, como sucede ao *T. bicolor*, os representantes da nova espécie dali emigram, uma vez completo o ciclo evolutivo, voltando a infestá-lo depois de algum tempo, o que nos leva a supôr que as gerações se alternam, ora em orquidáceas, ora em alguma outra planta, possivelmente das familias Bromeliaceae ou Araceae, assás preferidas por Mirideos de vários outros gêneros.

Durante, porém, o periodo em que se desenvolvem sobre orquidáceas, é tal a sua voracidade, que deixam as plantas totalmente da-

nificadas, pois todo o suco das folhas é sugado, daí decorrendo a seca desse órgãos e consequente cloróse do vegetal, o que poderá acarretar a morte deste.

CICLO EVOLUTIVO

Tal como sucéde com o *Tenthecoris bicolor*, o *T. figueiredoi* tambem pode ser observado em agrupamentos, na face dorsal das folhas, onde se verificam as diversas fases de sua evolução.

O desenvolvimento é paurometabolico. Os sexos são dificilmente distinguiveis a olho nú, mas uma simples lente possibilita a sua diferenciação, pelos caractéres sexuais externos, notando-se no segmento genital do macho dois prolongamentos bem conspícuos. Além disso, o macho é de dimensões um pouco mais reduzidas que a fêmea.

A oviposição é feita de modo semelhante ao que se verifica com o *T. bicolor*, praticando a fêmea, com o ovipositor, incisões nas folhas, aí depositando os ovos.

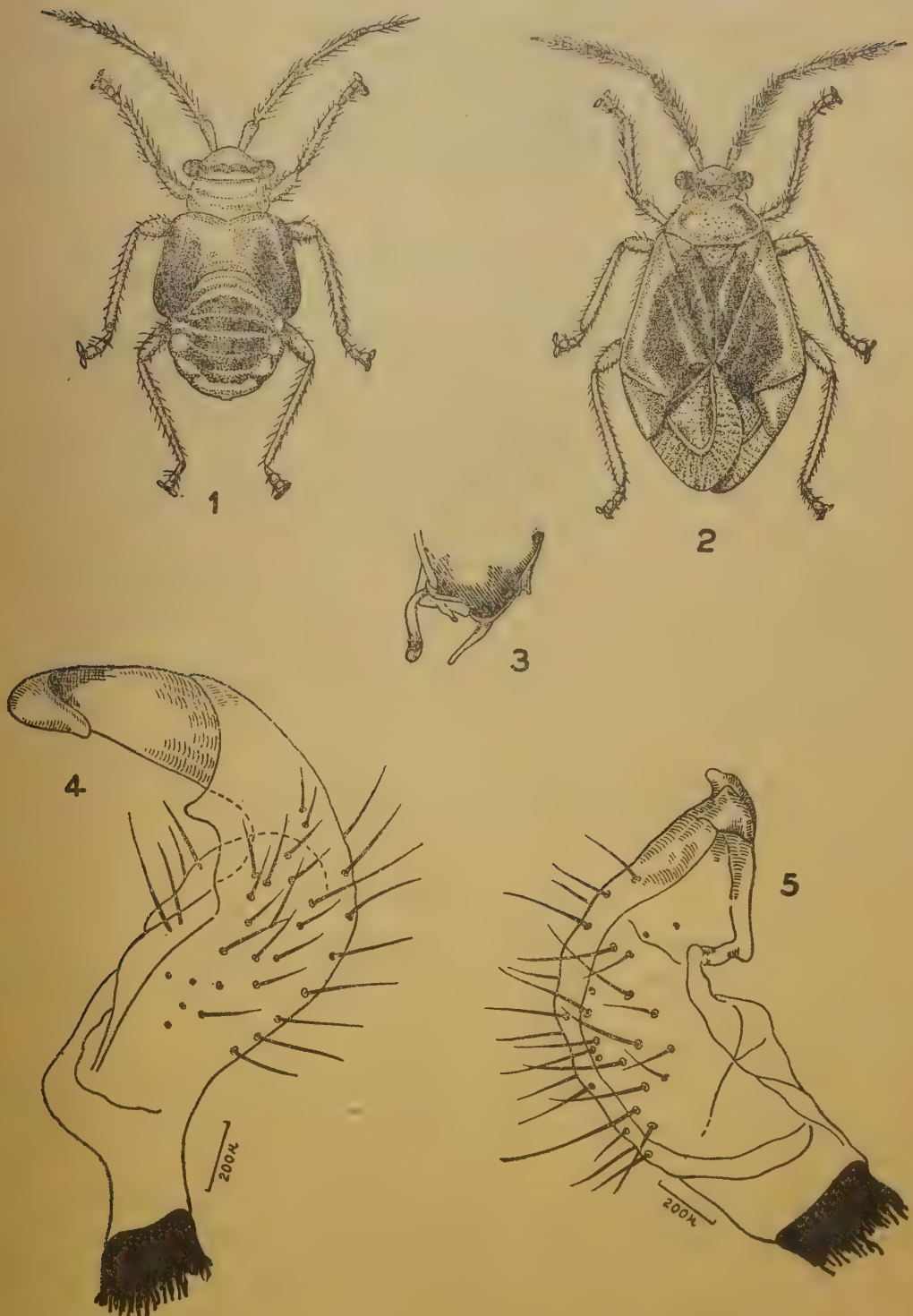
O ciclo evolutivo se processa em cêrca de 30 dias, até a fase adulta.

Passaremos agora à descrição do inseto, em suas principais fases evolutivas.

Ninfa do 1.º instar: é muito pequena, medindo pouco mais de 1 mm de comprimento. Cabeça pequena, de côr branca, com uma linha vermelha transversal, de um olho a outro, e outra lateral, de cada lado da borda inferior do olho à base do rostro; olhos vermelhos, situados lateralmente. Antenas de 4 segmentos, o 1.º levemente avermelhado, os demais muito claros, sendo o último bem menor que os outros. Pronoto e mesotórax brancos. Abdomem globoso, de côr vinácea. Patas de côr branca.

Ninfa do último instar: mede cêrca de 2 mm de comprimento ou pouco mais. Corpo ovalado, com o abdomem, de côr vinácea, terminando em ponta. Cabeça de côr creme; olhos salientes, avermelhados, situados lateralmente; de um olho a outro, nota-se uma estreita faixa vermelha. Outra faixa lateral se observa de cada lado, da borda inferior do olho à base do rostro. Antenas de 4 segmentos, sendo o 1.º de côr avermelhada, os 2 seguintes levemente enfuscados e o último pouco mais claro. Pronoto e mesotórax da côr da cabeça. Técas alares brilhantes, abauladas, de colorido aproximado ao do abdomem. Patas claras, de côr crême.

ADULTO — O adulto mede pouco mais de 3 mm, sempre menos de 3,5 mm, sendo a fêmea pouco maior que o macho. O corpo é mais ou menos ovalado, de côr vermelho-sanguineo ou vermelho-lutescente,



Tenthecoris figueiredoi Carvalho: 1, ninfa no último instar; 2, adulto; 3, segmento genital, mostrando os dois prolongamentos; 4, harpago esquerdo; 5, harpago direito (1 e 2, originais; 3, 4 e 5, segundo J. C. M. Carvalho).

com tegumento pouco esclerosado. Pilosidade muito curta e pouco densa. Cabeça distinta, de côr vermelha, com olhos laterais, salientes, vermelhos ou preto-avermelhados. Antenas de 4 segmentos, filiformes, sendo o 1.º vermelho, o 2.º negro e os dois últimos enfuscados. Comprimento do 1.º segmento, 0,3 mm; do 2.º, 0,8 mm; do 3.º, 0,4 mm; do 4.º, 0,3 mm.

Rostro de 4 segmentos, longo, atingindo o 3.º par de côxas, formando uma espécie de bainha onde se alojam as outras peças do aparelho bucal, estiliformes. É avermelhado na base e escuro no ápice, com a porção intermediária lúteo-avermelhada. Colar e pronoto vermelhos. Escutelo píceo, com a extremidade apical vermelha. Pronoto largo, trapezoidal. Pernas comuns ao gênero, de côr lúteo-avermelhada; tarsos com 3 artículos. Os hemiélitros ou azas anteriores apresentam o cório vermelho, transparente, com uma mancha negra que se extende desde a região do escutelo até à base da membrana. Clavo de côr pícea no ápice. Membrana totalmente pícea. Abdomem vermelho, apresentando, no segmento genital do macho, dois prolongamentos conspícuos, o maior situado à esquerda, quando vistos de cima. Na face ventral ou pleural, os esternites e pleuritos são de côr vermelha, excetuando as côxas e regiões adjacentes, que são de colorido vermelho-lutescente.

Em alguns espécimens, a cabeça, o pronoto, o mesoescuto e as tíbias tendem ao colorido vermelho amarelado ou alaranjado.

MEIOS DE COMBATE

Com o advento de inseticidas modernos, torna-se muito facil o contrôle deste inseto. Temos conseguido ótimos resultados com pulverizações de Gesarol A (contendo 5% de D.D.T.), na proporção de 1 quilo do produto para 100 litros de água.

Outro inseticida que também se tem mostrado muito eficaz é o Rhodiatóx (tiofosfato de dietilparanitrofenila), na proporção de 1:5.000.

Este último inseticida tem sido preferido por grande número de orquidicultores, devido não só à sua inegável eficácia, mas também por ser altamente econômico. Entretanto, dada sua elevada toxicidez, sua utilização deve cercar-se dos maiores cuidados, evitando-se o contato direto da droga com qualquer parte do corpo e também sua aspiração pelo operador, ao aplicá-lo.

Abstract

This paper deals with a new orchid pest, Tenthecoris figueiredoi Carvalho (Hemiptera, Miridae, Bryocorinae), recently described. Biological data, life history and some taxonomic details are studied. Control methods are also indicated.

BIBLIOGRAFIA

1 — J. C. M. Carvalho — "Mirideos neotropicais, XXXVIII: Descrição de três espécies novas" — Anais da Academia Brasileira de Ciências do Rio de Janeiro, XXII (1): 19/24 - 1950.

São Paulo
TIPOGRAFIA BRASIL
ROTHSCHILD LOUREIRO & CIA. LTDA.
Rua 15 de Novembro, 201
1951